

STUDI POTENSI EKSTRAK ANGGUR LAUT (*Caulerpa racemosa*) SEBAGAI ANTI VIRUS POX PADA TELUR AYAM BEREMBRIO BERDASARKAN JUMLAH SEL RADANG DAN HISTOPATOLOGI HEPAR

SKRIPSI

OLEH :

DYAH AYU PUSPITASARI

145130101111007



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

STUDI POTENSI EKSTRAK ANGGUR LAUT (*Caulerpa racemosa*) SEBAGAI ANTI VIRUS POX PADA TELUR AYAM BEREMBRIO BERDASARKAN JUMLAH SEL RADANG DAN HISTOPATOLOGI HEPAR

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

OLEH :
DYAH AYU PUSPITASARI
145130101111007



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

STUDI POTENSI EKSTRAK ANGGUR LAUT (*Caulerpa racemosa*) SEBAGAI ANTI VIRUS POX PADA TELUR AYAM BEREMBRIO BERDASARKAN JUMLAH SEL RADANG DAN HISTOPATOLOGI HEPAR

Oleh:


DYAH AYU PUSPITASARI


145130101111007

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 1 Agustus 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II


Dr. Sri Murwani, drh., MP
NIP. 19630101 198903 2 001


drh. Dahliatul Qosimah, M.Kes.
NIP. 19820127 201504 2 001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya


Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Dyah Ayu Puspitasari

NIM : 145130101111007

Program Studi : Pendidikan Kedokteran Hewan

Penulisan Skripsi berjudul :

Studi Potensi Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa Racemosa*) sebagai Anti Virus Pox pada Telur Ayam Berembrio Berdasarkan Jumlah Sel Radang dan Histopatologi Hepar

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 1 Agustus 2018

Yang menyatakan,



Dyah Ayu Puspitasari
NIM. 145130101111007

Studi Potensi Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa Racemosa*) Sebagai Anti Virus Pox pada Telur Ayam Berembrio Berdasarkan Jumlah Sel Radang dan Histopatologi Hepar

ABSTRAK

Cacar unggas (*fowl pox*) adalah penyakit menular yang terjadi pada semua jenis unggas, tetapi pengobatan untuk virus pox masih belum ada sehingga dilakukan sebuah inovasi dengan memanfaatkan bahan alam yaitu ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) sebagai anti virus. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh ekstrak anggur laut sebagai anti virus pox berdasarkan histopatologi hepar dan jumlah sel radang. Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Telur ayam berembrio yang digunakan adalah telur SPF (*Specific Pathogen Free*) berumur 9-11 hari. Terdapat 5 kelompok perlakuan dalam penelitian ini yaitu kelompok kontrol negatif TAB sehat tanpa inokulasi virus pox dan ekstrak, kelompok kontrol positif TAB diinokulasi dengan virus pox sebanyak 0.2 mL dengan konsentrasi 10%, dan kelompok perlakuan yaitu ekstrak anggur laut konsentrasi 100% dengan volume 0.03 mL, 0.05 mL, dan 0.07 mL pada umur 10 hari, kemudian diinokulasi virus pox dengan volume 0.2 mL pada umur 11 hari. Data kualitatif didapatkan dari histopatologi hepar yang dianalisis secara deskriptif dengan parameter kerusakan sel hepar, hepatosit, sel radang dan sinusoid. Data kuantitatif dengan mengukur jumlah sel radang organ hepar dan diuji secara kuantitatif menggunakan uji *One Way Analysis of Variance* (ANOVA) dengan tingkat kepercayaan sebesar 95% dan dianalisis lebih lanjut dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) menggunakan SPSS 24[®] for windows. Hasil menunjukkan bahwa pemberian ekstrak anggur laut dengan volume 0.03 mL paling baik dalam memperbaiki sel hepatosit hepar, berkurangnya nekrosis, dan menghambat kerusakan sel-sel hepar. Kesimpulan dari penelitian adalah ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) dengan volume 0.03 mL dapat digunakan sebagai anti virus pada TAB.

Kata Kunci : Virus Pox, *Caulerpa racemosa*, Telur Ayam Berembrio

Study on the Potential of Sea Grape (*Caulerpa Racemosa*) Extract to Inhibit Infection of Pox Virus Based on Number of Inflammatory Cells and Histopathology Hepar of Chick Embryos

ABSTRACT

Fowl pox was an infectious disease that can be happened in all types of poultry, but the treatment for pox virus was still not be found. Innovation was carried out by utilizing natural ingredients, sea grape (*Caulerpa racemosa*) extracts, for inhibiting infection of pox virus. The purpose of this study was to determine the effect of sea grape extract to inhibit infection pox virus based on hepatic histopathology and the number of inflammatory cells. This study was experimental using a complete randomized design (RAL). Embryonic egg was prepared from 9-11 days old. This research was divided into 5 treatment groups, they were negative control (No treatment), positive control inoculated with pox virus 0.2 mL and concentration 10% , and treatment group of sea grape extracted with volume 0.03 mL, 0.05 mL, and 0.07 mL then inoculated with pox virus 0.2 mL. The qualitative data was obtained by hisptopathology hepar. Histopathology hepar was analyzed descriptively with hepatic cell damage parameters, hepatocytes, inflammatory cells and sinusoids. The number of hepatic inflammatory cells analyzed by using One Way Analysis of Variance (ANOVA) test with 95% and continously analyzed by Tukey test with SPSS 24® for windows. The results showed that administration of sea grape extract with a volume of 0.03 mL was best in improving the histopathology of the liver and inhibiting damage to hepatic cells. The conclusion of this research was sea grape extract (*Caulerpa racemosa*) with volume of 0.03 mL can be used to inhibit infection of pox virus at chick embryos.

Keywords : Virus Pox, *Caulerpa racemosa*, *Chick Embryos*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang mengatur segala urusan manusia dan atas segala limpahan rahmat, taufik, serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan SKRIPSI ini yang berjudul **“Studi Potensi Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa Racemosa*) Sebagai Anti Virus Pox pada Telur Ayam Berembrio Berdasarkan Jumlah Sel Radang dan Histopatologi Hepar”**. Sholawat dan salam semoga tetap tercurah kepada Nabi Muhammad SAW.

Selama penelitian dan penyusunan skripsi ini, halangan dan rintangan terus menerus terjadi pada diri penulis, sehingga dalam penulisannya melibatkan banyak pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terimakasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada:

1. Dr. drh. Djoko Winarso, MS. selaku dosen pembimbing satu atas bimbingan, kesabaran, fasilitas dan waktu dalam menyusun skripsi.
2. Dr. Sri Murwani, drh, MP. selaku dosen pembimbing satu atas bimbingan, kesabaran, fasilitas dan waktu dalam menyusun skripsi.
3. drh. Dahliatul Qosimah, M.Kes. selaku dosen pembimbing dua atas kesabaran, fasilitas, waktu, serta bimbingan dalam menyusun skripsi.
4. drh. Indah Amalia Amri, M.Si dan drh. Ajeng Aeka M.Sc selaku dosen penguji atas bimbingan dan motivasi dalam menyusun skripsi.
5. drh. Fajar Shodiq Permata, M.Biotech selaku dosen yang selalu membimbing, mengarahkan dan memberi motivasi untuk penulis.

6. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan yang selalu memberikan dukungan tiada henti demi kemajuan FKH UB tercinta
7. Keluarga tercinta ayahanda Juang Susanto, ibu Maulidah, kakak Resti Amelia Susanti, Adik Inas Laili Fawwazi, Farhan Ardi Susanto dan Jihan Nayla Qaisara yang senantiasa memberikan doa, dorongan, semangat serta fasilitas yang telah diberikan
8. Sahabat dalam penelitian skripsi Risa Dwi Dessriyanti, Isbiya Whinona dan Bayu Wira Jaya serta teman seperjuangan melaksanakan penelitian atas segala dukungan, semangat dan motivasi.
9. Sahabat-sahabat terdekat Ikhwan, Kristi, Dana, Arung, Fitrah, Duanti, Gita, Winda, Rizal, yang selalu memberikan motivasi, semangat dan doa
10. Teman teman angkatan Avengers dan Amaze Class yang selalu memberikan dorongan semangat dan bantuan
11. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan karya tulis ini yang tidak mungkin penulis sebutkan satu per satu.

Akhir kata penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat dan menambah pengetahuan bagi penulis dan pembaca.

Malang, 1 Agustus 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
 BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	5
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Fowl Pox	6
2.1.1 Etiologi	6
2.1.2 Epidemiologi	7
2.1.3 Patogenesis	8
2.1.4 Gejala Klinis	9
2.1.5 Patologi Anatomi	9
2.1.6 Peneguhan Diagnosa	11
2.2 Telur Ayam Berembrio	12
2.2.1 Morfologi TAB	13
2.2.2 Sistem Imun Embrio Ayam	14
2.3 <i>Caulerpa racemosa</i>	17
2.3.1 Morfologi	17
2.3.2 Kandungan Ekstrak	19
2.4 Hepar	19
2.5.1 Histologi Organ Hepar	19
2.5.2 Fisiologi Hepar	21
2.5.3 Fungsi Hepar	23
 BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konsep	24
3.2 Hipotesa Penelitian	26

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	27
4.2 Alat dan Bahan	27
4.3 Tahapan Penelitian	28
4.4 Rancangan Penelitian	28
4.5 Variabel Penelitian	29
4.6 Prosedur Kerja.....	30
4.6.1 Persiapan TAB.....	30
4.6.2 Pembuatan Ekstraks.....	30
4.6.3 Isolasi Pox Virus.....	31
4.6.4 Inokulasi Ekstrak dan Pox Virus	32
4.6.5 Pengambilan dan Pembuatan Preparat.....	33
4.7 Analisa Data	35

BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Kasus Lapang Cacar Unggas	36
5.2 Penelitian Pendahuluan	36
5.3 Isolasi Virus Pox Isolat Lapang	37
5.3.1 Gambaran Makroskopis dan Mikroskopis CAM.....	37
5.3.2 Gambaran Makroskopis Embrio Ayam	39
5.4 Pengaruh Klorofil Anggur Laut (<i>Caulerpa rasemosa</i>) Terhadap Virus Pox Berdasarkan Histopatologi Hepar	41
5.5 Pengaruh Klorofil Anggur Laut (<i>Caulerpa rasemosa</i>) Terhadap Virus Pox Berdasarkan Jumlah Sel Radang.....	48

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan.....	55
6.2 Saran	55

DAFTAR PUSTAKA	56
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN.....	61
----------------------	-----------

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.4 Rancangan Penelitian	29
5.1 Rata-rata Jumlah Sel Radang	50



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Bentuk fowl pox virus	7
2.2 Infeksi virus pox bentuk difterik	9
2.3 Infeksi virus pox bentuk cutaneus.....	10
2.4 Histopatologi kulit yang terinfeksi virus pox.....	10
2.5 Lesi pada saluran respirasi atas	11
2.6 Telur ayam berembrio	13
2.7 <i>Caulerpa racemosa</i> (anggur laut)	18
2.8 Histopatologi organ hepar normal.....	21
3.1 Kerangka konseptual.....	24
5.1 Ayam terinfeksi virus pox.....	36
5.2 Makroskopis CAM kontrol positif.....	38
5.3 Histopatologi CAM kontrol positif.....	38
5.4 Embrio Ayam.....	40
5.5 Histopatologi hepar kontrol negatif	43
5.6 Histopatologi hepar kontrol positif	43
5.7 Histopatologi hepar kelompok perlakuan 1	44
5.8 Histopatologi hepar kelompok perlakuan 2	44
5.9 Histopatologi hepar kelompok perlakuan 3	45
5.10 Gambaran Histopatologi Hepar TAB.....	48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Kerangka Operasional	61
2. Pembuatan Preparat Histopatologi	62
3. Pembuatan suspensi virus	64
4. Laik Etik.....	65
5. Hasil uji SPSS	66
6. Dokumentasi Kegiatan	68



DAFTAR SINGKATAN

%	: Persen
±	: Kurang lebih
×	: Kali
<	: Kurang dari
>	: Lebih dari
	: Alfa
ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
ATP	: Adenosina trifosfat
CAM	: <i>Chorioalantois membran</i>
cm	: centimeter
g	: gram
HE	: Hematoksilin eosin
FPV	: Fowl Pox Virus
Kbp	: Kilo-base pair
kg	: kilogram
KN	: Kontrol Negatif
KP	: Kontrol Positif
mL	: milliliter
mg	: milligram
NF- B	: <i>Nuclear Factor Kappa-</i>
rpm	: rotasi per menit
SPF	: <i>Spesifik Pathogenic Free</i>
TAB	: Telur Ayam Berembrio
TNF	: <i>Tumor Necrosis factor</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Cacar unggas (*fowl pox*) adalah penyakit menular yang dapat terjadi pada semua umur dan jenis unggas. Cacar unggas disebabkan oleh *fowl pox virus* (FPV), virus DNA dari genus *Avipoxvirus* family *Poxviridae* dan subfamily *Chordopoxvirinae*. Secara klinis unggas yang terkena dampak *poxvirus* menunjukkan tiga bentuk penyakit yaitu bentuk cutaneus, difterik, dan sistemik. Pada bentuk cutaneus menunjukkan lesi nodular pada bagian tubuh yang tidak ditumbuhi bulu. Ciri-ciri difterik adalah adanya lesi fibronekrotik pada rute oropharyngeal dan pada jaringan internal jika menunjukkan bentuk sistemik (Gilhare, 2015).

Tingkat kematian akibat cacar unggas mencapai 50% pada bentuk difterik yang disertai oleh infeksi bakteri sekunder. Fowl pox termasuk dalam *emerging disease* dan varian dari FPV sudah banyak dilaporkan, sedangkan untuk pengobatannya belum tersedia (Gilhare, 2015). Efek penyakit cacar pada ayam petelur biasanya menyebabkan ayam menjadi kurus, anoreksia, dan penurunan produksi telur. Penyakit berlangsung kira-kira selama 3-4 minggu (Silvia, 2009), tetapi bila terjadi komplikasi dengan penyakit lain bisa berlangsung sangat lama. Kerugian akibat infeksi cacar pada kalkun lebih berpengaruh pada gangguan pertumbuhan dibandingkan dengan kematian. Kerugian paling besar adalah kebutaan akibat lesi kulit pada mata dan ayam menjadi sangat kurus. Apabila cacar menyerang peternakan pembibitan dapat menimbulkan penurunan produksi dan fertilitas telur (Pudjiatmoko, 2014).

Infeksi virus pox yang di inokulasi pada CAM telur ayam berembrio akan masuk melalui *inner cell membrane* telur dan menuju embrio. Pada embrio virus akan masuk ke dalam vena porta kemudian menuju ke hepar dan organ lain. Sehingga hepar akan mengalami inflamasi dan kerusakan. Pada proses inflamasi akan mengaktifkan sel fagosit. Proses fagositosis akan mengaktivasi faktor nuklear seperti NF-kB yang akan menginduksi sintesis sitokin proinflamasi. Pada tahap selanjutnya, sel endotel diaktifkan dan akan mendorong sintesis mediator inflamasi untuk meningkatkan ekspresi molekul adhesi yang mengaktifkan diapedesis sel radang ke jaringan untuk melawan agen infeksi.

Rumput laut *Caulerpa racemosa* merupakan salah satu jenis alga hijau yang hidup menyebar di beberapa perairan Indonesia. *Caulerpa racemosa* menghasilkan metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antioksidan. Metabolit sekunder yang dihasilkan adalah *glycoglycerolipid* dari kelompok enol, *α-l-gliceryl-Dmannoside-4-4amonium* yang digunakan sebagai antihelmic, fenol sebagai antioksidan, *caulerpins* sebagai antiinflamasi (Ridhowati, 2016), dan klorofil sebagai antianemia, anti proteolitik, antibakteri, antioksidan, meningkatkan imunitas, menstabilkan tekanan darah, pengganti sel-sel yang rusak, memperbaiki fungsi hati, menyembuhkan luka, dan merangsang fibroblas (Suparmi, 2009). Klorofil berfungsi Menurut Apriyanto (2016) klorofil dilaporkan memiliki aktivitas anti virus hepatitis C. Dalam berbagai penelitian *in vitro* dan *in vivo*, klorofil telah terbukti melakukan aktifitas antioksidan, antimutagen, anti inflamasi, detoksifikasi xenobiotik dan sebagai imunomodulator (Pirenantyo, 2008). Ekstrak anggur laut

yang berfungsi sebagai anti inflamasi akan menghambat terjadinya inflamasi dengan cara menghambat aktivasi dari *Nuclear Factor Kappa- β* (NF-K β).

Pemanfaatan *Caulerpa racemosa* merupakan upaya dalam peningkatan inovasi dalam bidang penelitian. Seperti diketahui sebelumnya bahwa virus pox merupakan salah satu penyakit yang menyebabkan kerugian ekonomi yang sangat tinggi, oleh sebab itu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai potensi dari ekstrak klorofil yang terkandung di dalam tanaman alam asli Indonesia terhadap penyakit yang disebabkan oleh virus pox berdasarkan jumlah sel radang dan gambaran histopatologi hepar.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) dapat sebagai anti virus pox berdasarkan gambaran histopatologi hepar?
2. Apakah ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) mampu menurunkan jumlah sel radang terhadap virus pox?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah disebutkan, maka penelitian ini dibatasi pada :

1. Virus pox diperoleh dari ayam petelur di pasar hewan Blitar yang terinfeksi virus *fowl pox* dengan gejala klinis tipe cutaneus (**Lampiran 6**) yaitu terdapat nodul pada pial (Emmanuel, 2014).
2. Isolat lapang berupa nodul pada pial dibuat suspensi 10% dengan perbandingan 10 g organ : pengencer 90 mL dan ditambahkan penisilin dan streptomisin (Gilhare, 2015) (**Lampiran 3**)

3. Penelitian ini menggunakan telur ayam berembrio (TAB) *Spesific Pathogenic Free* (SPF) dengan umur 9-12 hari (Kencana, 2014). Penggunaan TAB dalam penelitian ini telah mendapatkan sertifikat laik etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya Malang dengan No : 764-KEP-UB (**Lampiran 4**)
4. Anggur laut (*Caulerpa racemosa*) diperoleh dari perairan laut daerah Jepara dengan ciri-ciri thalus berwarna hijau, terdapat bulatan-bulatan seperti anggur pada puncak cabang (Ridhowati, 2016).
5. Ekstrak anggur laut diekstraksi menggunakan pelarut aseton dan metanol dengan perbandingan 3:7 (Dimara, 2011).
6. Pemberian ekstrak *Caulerpa racemosa* dilakukan dengan cara inokulasi dengan volume yang berbeda yaitu 0.03 mL, 0.05 mL dan 0.07 mL (Murtini, 2006)
7. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah jumlah sel radang dan histopatologi hepar dengan metode pewarnaan HE (Ashari, 2013)

1.4 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) sebagai anti virus pox berdasarkan perbaikan gambaran histopatologi hepar
2. Mengetahui pengaruh ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) mampu menurunkan jumlah sel radang terhadap virus pox

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini dapat digunakan sebagai kajian ilmiah pemanfaatan ekstrak anggur laut (*Caulerpa Racemosa*) untuk penyakit cacar unggas berdasarkan hasil jumlah sel radang dan gambaran histopatologi hepar. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai rujukan untuk pengembangan penelitian khususnya di Indonesia.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Fowl Pox*

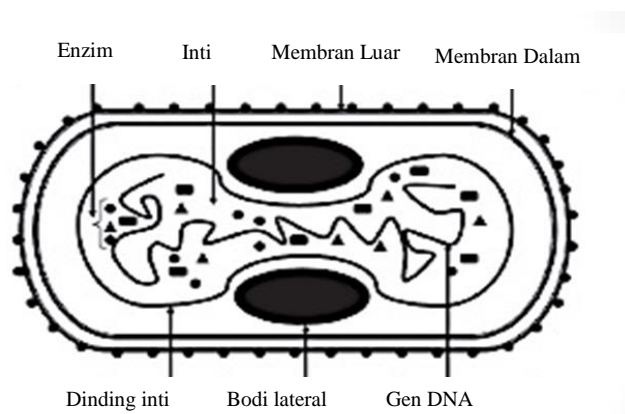
Cacar unggas adalah penyakit viral pada unggas yang pada umumnya menyerang ayam, merpati, kalkun, kenari, merak, burung gereja, dan spesies lainnya. Pada ayam, cacar unggas disebabkan oleh *Fowl Pox Virus* (FPV) (Afonso *et al.*, 2000). Virus pox merupakan virus terbesar dan paling kompleks. Terdapat dua bentuk penyakit cacar unggas yaitu *dry pox* dan *wet pox*. Infeksi virus pox dapat menyebabkan kerugian ekonomi yang cukup besar bagi peternak (Pudjiatmoto, 2014).

2.1.1 Etiologi

Cacar unggas terdapat dua bentuk penyakit yaitu *dry pox* dan *wet pox*. *Dry pox* menginfeksi bagian cutaneus (permukaan kulit) dari jaringan epitel kulit yang tidak tertutup oleh bulu. *Dry pox* ditandai dengan adanya nodul pada jengger, pial, tepi paruh, kelopak mata, kaki atau sayap dan bagian kulit lainnya yang tidak tertutup oleh bulu. Sedangkan *wet pox* merupakan jenis pox yang menginfeksi pada bagian mukosa mulut, saluran pernafasan atas dan saluran pencernaan yang ditandai dengan adanya nodul putih dan lesi yang dapat menyebabkan gangguan pernapasan (Werf, 2008).

Klasifikasi dari *fowl pox* virus adalah sebagai berikut :

Famili	: Poxviridae
Subfamili	: Chordopoxvirinae
Genus	: Avipoxvirus
Spesies	: <i>Fowlpox virus</i>



Gambar 2.1 Bentuk *fowl pox* virus (Atkinson, 2005)

Fowl pox virus berasal dari strain DNA virus, berbentuk seperti batu bata (*brick shape*) (**Gambar 2.1**) dengan ukuran genome sebesar 288-300 Kbp. Terdapat 4 strain pox virus unggas yang menyerang berbagai spesies unggas yaitu *Virus Fowl Pox*, *Virus Tukey Pox*, *Virus Pigeon Pox* Dan *Virus Caary Pox*. Replikasi dan maturasi dari virus terjadi pada sitoplasma sel inang. *Fowl pox* virus disebarkan oleh parasit dan unggas liar (Gilhare, 2015).

2.1.2 Epidemiologi

Di Indonesia penyakit cacar ayam sudah tersebar luas hampir di seluruh wilayah, kejadian cacar ayam di suatu peternakan sangat dipengaruhi oleh kondisi kesehatan peternakan yang bersangkutan. Penyebaran atau penularan penyakit ini berjalan lambat. Tingkat morbiditas penularan penyakit cacar pada ayam dan kalkun bervariasi dari beberapa ekor hingga seluruh flock terinfeksi jika virus yang menyerang bersifat virulen atau ganas dan juga tidak dilakukan program pengendalian penyakit (Weli, 2011).

Pada burung dara dan ayam tingkat morbiditas dan mortalitasnya tinggi. Sedangkan penyakit cacar pada burung sejenis kenari dapat menyebabkan angka

mortalitas atau kematian hingga 80-100%. Tingkat kematian yang sangat tinggi pernah diamati terjadi pada burung puyuh yang terinfeksi virus *Quailpox*. Penyakit berlangsung kira-kira selama 3-4 minggu, tetapi bila terjadi komplikasi dengan penyakit lain bisa berlangsung sangat lama (Pudjiatmoko, 2014).

2.1.3 Patogenesis

Infeksi virus cacar dapat terjadi secara mekanik melalui kulit yang terluka atau mengalami laserasi. Penularan virus pox juga dapat terjadi secara kontak langsung antara ayam sakit dengan ayam lain yang peka. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa insekta tertentu seperti nyamuk, kutu dan beberapa jenis lalat dapat menularkan penyakit tersebut. Nyamuk yang membawa virus setelah menggigit unggas yang terinfeksi dapat menularkannya secara langsung. Pada lingkungan yang tercemar, udara yang bercampur bulu dan keropeng kering yang mengandung virus pox merupakan sumber penularan melalui kulit dan saluran pernafasan (Adebajo, 2012).

Virus pox akan masuk melalui mata atau saluran pernafasan kemudian melalui saluran air mata dapat mencapai daerah laring dan menyebabkan infeksi di daerah tersebut. Virus pox akan menempel pada sel epitel dan melakukan replikasi virus yang terjadi pada sitoplasma sel hospes. Proses penetrasi sangat kompleks dan mungkin melibatkan lebih dari satu mekanisme. Uncoating terjadi dalam dua tahap, pengangkatan membran luar saat partikel memasuki sel dan partikel virus tidak dilapisi selaput luarnya dan inti masuk ke dalam sitoplasma (OIE, 2016).

2.1.4 Gejala Klinis

Secara klinis unggas yang terkena dampak *poxvirus* menunjukkan tiga bentuk penyakit yaitu bentuk cutaneus, difterik, dan sistemik. Pada bentuk cutaneus menunjukkan lesi nodular pada bagian tubuh yang tidak ditumbuhi bulu. Biasa nodul terbentuk pada kaki, jengger, pial dan kelopak mata. Unggas terlihat kurus dan lethargi, karena penurunan nafsu makan. Cacar bentuk cutaneus stadium awal harus dibedakan dengan infeksi kulit oleh bakteri atau ektoparasit (Silvia, 2009)



Gambar 2.2 Infeksi virus pox pada bentuk difterik (Pudjiatmoko, 2014).

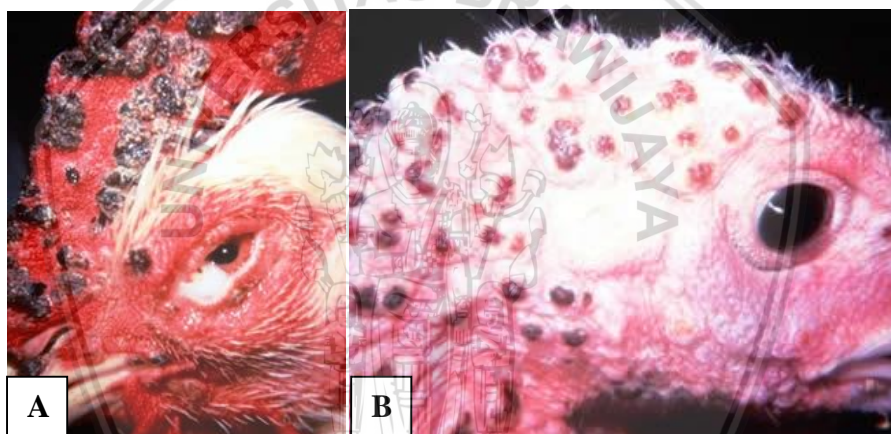
Keterangan : A. Nodul berwarna putih
B. Lesi fibrokinetik

Pada bentuk difterik ditunjukkan dengan adanya lesi fibronekrotik pada rute oropharyngeal dengan ciri warna kekuningan muncul pada membrane mukosa mulut, esophagus dan trakea dapat dilihat pada **Gambar 2.2** . Apabila lesi ditemukan pada daerah trakea, unggas akan terlihat susah bernafas karena saluran udara tertutup (Gilhare, 2015).

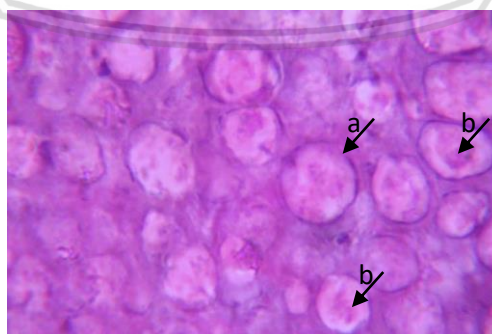
2.1.5 Patologi Anatomi

Bentuk cutaneous fowl pox memiliki ciri dengan adanya lesi nodular pada berbagai bagian kulit pada ayam dan kalkun (**Gambar 2.3**). Selain adanya lesi pada bagian kulit, juga terdapat lesi pada bagian pial, jengger dan juga leher ayam. Pada pemeriksaan histopatologi kulit yang terinfeksi virus pox didapatkan

pembengkakan keratinosit dan terdapat eosinofilik inklusi bodies dapat dilihat pada **Gambar 2.4**. Pada beberapa kasus yang sudah parah, lesi juga dapat ditemukan pada bagian kaki. Lesi akan mengembang menjadi besar hingga berwarna kekuningan dan semakin lama mulai menebal dan menghitam. Lesi biasanya akan berkembang dan menyatu sehingga menjadi bentuk yang lebih besar dan melebar. Lesi yang muncul dibagian nostril akan mengakibatkan adanya leleran nasal. Lesi cutaneous pada bagian kelopak mata akan menyebabkan kesulitan untuk membuka mata (Emmanuel, 2014)



Gambar 2.3 Infeksi virus pox bentuk cutaneus (Pudjiatmoko, 2014).
Keterangan : A. Nodul pada bagian jengger
B. Nodul pada daerah yang tidak tertutupi bulu



Gambar 2.4 Histopatologi kulit yang terinfeksi virus pox terdapat pembengkakan keratinosit (a) dan terdapat eosinofilik inklusi bodies (b). Perbesaran 400x dengan pewarnaan HE (Joshi, 2012)

Bentuk difterik *fowl pox* memiliki lesi yang berkembang dibagian membran mucus pada bagian mulut, oesophagus, *pharynx*, *larynx*, dan trakea. Lesi caseosa akan menempel pada bagian mucosa dari *larynx* dan mulut karena adanya masa proliferasi yang berkembang. Lesi pada bagian trakea akan menyulitkan jalanya pernafasan. Perbedaan secara umum antara bentukan cutaneus dan difterik adalah lokasi lesi yang terlihat. Bentuk cutaneus memiliki ciri khas adanya lesi pada bagian luar organ, terutama dibagian kulit. Sedangkan pada bentuk difterik memiliki ciri adanya lesi pada bagian saluran pernapasan atas dapat dilihat pada **Gambar 2.5** (Pudjiatmoko, 2014).



Gambar 2.5 Lesi pada saluran respirasi atas (Pudjiatmoko, 2014)

2.1.6 Peneguhan Diagnosa

Diagnosa pada penyakit *fowl pox* dapat dilakukan dengan cara mengamati gejala klinis yang timbul. Hasil pengamatan gejala klinis harus ditunjang dengan pemeriksaan lanjutan seperti pemeriksaan histopatologi organ. Dengan dilakukannya pemeriksaan histopatologi, maka akan didapatkan adanya beda inklusi yang terlihat pada sitoplasma sel dari potongan jaringan yang diperiksa. Selain itu, peneguhan diagnosa juga dapat dilakukan dengan menginokulasikan virus pada TAB (telur ayam berembrio) atau pada biakan sel. Hasil positif dari

inokulasi virus ditemui adanya plak berwarna putih pada daerah CAM (*chorioallantois membran*) yang ada pada TAB. Selanjutnya, dilakukan identifikasi virus secara langsung dibawah mikroskop elektron terhadap lesi yang dihasilkan. Diagnosa juga dapat dilakukan dengan uji serologi untuk mendeteksi antibodi melalui serum yang diambil 15-20 hari pasca infeksi (Pudjiatmoko, 2014).

2.2 Telur Ayam Berembrio (TAB)

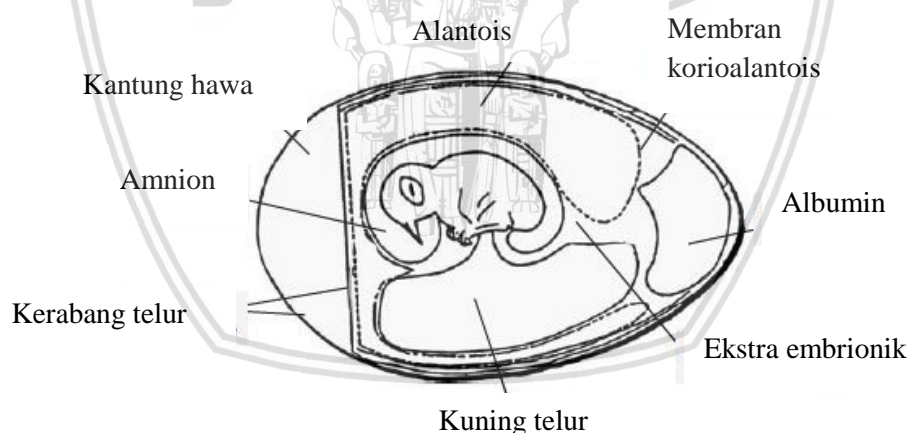
Telur Ayam Berembrio (TAB) telah banyak digunakan untuk berbagai macam penelitian mengenai perkembangan vertebrata karena perkembangan embrio di dalam telur ayam mirip dengan mamalia dan proses organogenesisnya untuk penelitian jauh lebih diterima daripada menggunakan embrio manusia. Embrio ayam berkembang cepat dan menetas setelah 21 hari inkubasi. Selain itu, telur ayam berembrio merupakan media percobaan secara *in vivo* yang umumnya dipakai untuk memperbanyak virus dalam suatu percobaan. Telur berembrio sebagai suatu sistem biologis yang dinamis diharapkan menggambarkan kondisi *in vivo*. Kondisi *in vivo* adalah adanya metabolisme dan perkembangan sel-sel embrio di dalam telur yang berlangsung secara terus menerus (Kusumawati, 2016).

Bahan-bahan kimia termasuk zat antivirus, juga dapat diinokulasikan ke dalam telur. Efek bahan tersebut terhadap virus dan embrio dipengaruhi oleh umur embrio, aplikasi rute pemberian, kemampuan penyerapan bahan oleh embrio, dan struktur farmakologi dari bahan itu sendiri. TAB yang digunakan untuk memperbanyak virus pox berumur 9-10 hari. Embrio dan membran pendukungnya

menyediakan beragam tipe sel yang dibutuhkan untuk kultur berbagai tipe virus yang berbeda (Murtini, 2006)

2.2.1 Morfologi TAB

Anatomi telur ayam yang telah diinkubasi selama 4-5 hari terdiri dari embrio yang sudah berkembang dari blastoderm, amnion yang berfungsi untuk melindungi embrio dari dehidrasi perlekatan organ-organ tubuh yang sedang terbentuk serta memberi ruang untuk pergerakan embrio, serta membran chorioallantois yang merupakan selaput embrio paling luar berfungsi menyerap kalsium dari cangkang telur lalu mendistribusikannya untuk pembentukan tulang serta berperan dalam respirasi melalui pembuluh darah chorioallantois (**Gambar 2.6**) (Keller dkk., 1999).



Gambar 2.6 Telur Ayam Berembrio (Keller dkk., 1999)

Embrio secara langsung dikelilingi oleh membrane amnion yang membentuk kantong amnion yang berisi cairan amnion (**Gambar 2.5**). Embrio melekat pada kantong kuning telur yang berlokasi kira-kira ditengah telur dan menyuplai kebutuhan nutrisi untuk perkembangan embrio (Kristianingrum,

2015). Telur sebaiknya berasal dari kelompok yang bebas dari patogen spesifik atau telur *Specific Pathogen Free* (SPF). Telur SPF berasal dari ayam yang tidak divaksin dan dijamin bebas dari penyakit patogen tertentu diantaranya penyakit avian *adeno virus group I cello virus type I*, *avian adenovirus group III* (eds), *avian encephalomyelitis*, *avian influenza* (tipe A), *avian paramyxovirus type II*, *avian reovirus*, *haemophilus paragallinarum*, *infectious bronchitis*, *infectious bursal disease*, *infectious laryngotracheitis*, *lymphoid leukosis viruses*, *marek disease*, *mycoplasma gallisepticum*, *Newcastle disease*, *salmonella pullorum*. Penggunaan telur dari kelompok antibodi positif akan mengurangi kemampuan virus untuk tumbuh (Kencana, 2014).

2.2.2 Sistem Imun Ayam

Imunitas adalah sistem pertahanan pada makhluk hidup yang melindungi tubuh terhadap pengaruh biologis luar dengan mengidentifikasi dan membunuh patogen dan sel tumor. Sistem ini dapat membangkitkan beberapa macam sel dan molekul yang secara spesifik mampu mengenali dan mengeliminasi benda asing (Decker, 2000). Sistem imun dibagi menjadi sistem imun non- spesifik (seluler) dan sistem imun spesifik (humoral). Mekanisme keduanya tidak dapat dipisahkan satu sama lain karena saling meningkatkan efektivitasnya dan terjadi interaksi sehingga menghasilkan aktivitas biologi yang berpadu (Carpenter 2004).

Respon kekebalan non-spesifik (alamiah) terdiri dari faktor-faktor yang sudah ada sejak lahir atau sebelum tubuh terinfeksi mikroorganisme. Respon

kekebalan ini bersifat cepat dan paling awal dalam pertahanan terhadap infeksi mikroorganisme. Sistem kekebalan non-spesifik terdiri dari beberapa komponen yaitu *barrier* fisik dan kimia (bulu, kulit, mukosa); sel fagosit (makrofag, NK, neutrofil, heterofil) (Ferdous *et al.* 2008); protein komplemen dan mediator peradangan dan sitokin (Scott & Owens 2008). Sistem kekebalan non-spesifik tidak hanya melawan patogen tetapi juga mengawali terjadinya reaksi kaskade yang melibatkan berbagai macam komponen sistem kekebalan untuk selanjutnya menginduksi sistem kekebalan spesifik (adaptif). Sistem kekebalan non-spesifik sangat penting pada fase awal invasi mikroorganisme dengan cara membatasi penyebaran patogen sampai ke sistem kekebalan spesifik (sel limfosit B dan T) bekerja untuk melawan infeksi tersebut (Juul-Madsen *et al.* 2008).

Sistem kekebalan spesifik terdiri dari kekebalan humoral atau *humoral mediated immunity* (HMI) dan kekebalan yang diperantarai sel atau *cell mediated immunity* (CMI). Sistem ini merespon antigen secara spesifik melalui reaksi antigen dan antibodi, membentuk sel T dan sel B memori terhadap antigen pemaparnya. Sel-sel sistem imun yang bereaksi spesifik dengan antigen adalah limfosit B yang memproduksi antibodi dan limfosit T yang mengatur sintesis antibodi (Mazengia *et al.* 2009) maupun sel T yang mempunyai fungsi efektor atau sitotoksik langsung. Pembentukan antibodi diawali oleh makrofag yang telah memfragmentasi antigen kemudian fragmen antigen tersebut dipresentasikan kepada sel limfosit Th melalui MHC II yang terletak di permukaan makrofag. Sel Th berinteraksi dengan APC melalui CD4 dan TCR, kemudian sel Th teraktivasi dan berproliferasi serta mengeluarkan sitokin (IL-1)

yang akan mengaktifkan sel B yang naiv menjadi sel plasma yang akan memproduksi antibodi spesifik terhadap antigen tersebut (Letran *et al.* 2011).

Pada embrio ayam, imunitas sudah terbentuk pada umur 12 hari hingga 21 hari masa inkubasi yang menunjukkan bahwa thymus menjadi organ pertama yang sepenuhnya berkembang dan aktif sebagai organ limfositik sebelum bursa. Pada hari ke 12 inkubasi timus mengandung 86% limfosit. Pada lima jumlah limfosit sedikit pada embrio maupun setelah ayam menetas. Beberapa limfosit juga ditemukan di sumsum tulang belakang (Jankovic *et al.*, 1975).

Thymus merupakan organ limfoid primer yang berfungsi sebagai tempat embriogenesis dan pematangan sel-sel limfoid (Treesh *et al.*, 2014) dan sebagai organ untuk perkembangan limfosit T yang sudah matang lalu berpindah dari bagian kortek ke medula thymus, memasuki sirkulasi tubuh melalui pembuluh medula thymus (Olah *and* Vervelde, 2008). Timus mengecil dengan bertambahnya umur, sebagai tanda maturasi sistem imun pada individu. Bursa fabricius merupakan tempat diferensiasi dan pematangan sel limfosit B. Bursa berkembang pada masa pembentukan embrio dan setelah penetasan (Wu *et al.*, 2013).

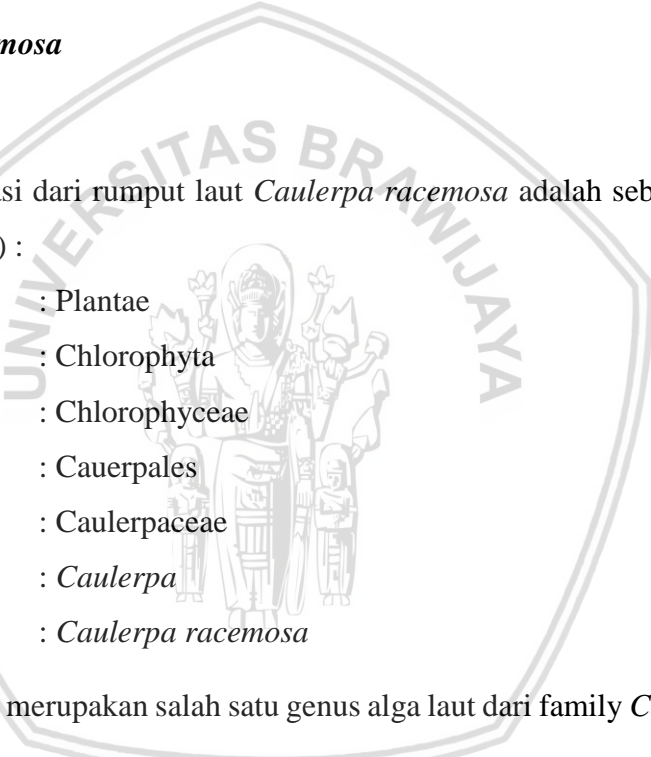
Maternal antibody yang terdapat dalam telur unggas dapat diklasifikasikan menjadi tiga yaitu IgY, IgA dan IgM. Immunoglobulin Y dapat ditemukan dalam kuning telur sedangkan IgA dan IgM berada dalam putih telur sebagai hasil dari sekresi mukosa *oviduct*. Perpindahan IgY dari kuning telur ke embrio melalui dua tahapan yaitu tahap pertama IgY diambil dari kuning telur oleh reseptor IgY pada folikel ovarium, selanjutnya tahap kedua IgY ditransfer

ke embrio melalui saluran sirkulasi embrio. Jenis perlindungan ini termasuk dalam tipe kekebalan pasif karena antibodi diperoleh secara langsung dari induk yang mampu melindungi embrio dari berbagai macam infeksi penyakit. Efisiensi IgY dalam kuning telur telah dapat digunakan sebagai terapi aplikatif atau terapi kekebalan pasif untuk mencegah dan mengendalikan berbagai infeksi penyakit pada unggas (Yegani & Korver, 2010).

2.3 *Caulerpa racemosa*

2.3.1 Morfologi

Klasifikasi dari rumput laut *Caulerpa racemosa* adalah sebagai berikut (Verlaque, 2003) :



Kingdom	: Plantae
Divisi	: Chlorophyta
Kelas	: Chlorophyceae
Ordo	: Cauerpales
Famili	: Caulerpaceae
Genus	: <i>Caulerpa</i>
Spesies	: <i>Caulerpa racemosa</i>

Caulerpa merupakan salah satu genus alga laut dari family *Caulerpaceae* dan termasuk spesies dari kelas *Chorophyceae* (alga hijau). *Caulerpa racemosa* memiliki thalus berwarna hijau terdiri dari banyak cabang tegak yang tingginya sekitar 2,5-6,0 cm batang pokok berukuran antara 16-22 cm. Terdapat bulatan-bulatan seperti anggur pada puncak cabang, panjang setiap puncak cabang sekitar 2,5-10,0 cm (**Gambar 2.7**). *Caulerpa racemosa* tumbuh bergerombol atau berumpun oleh karena itu sering disebut sebagai anggur laut (Djapiala,

2015). Keberadaannya dapat dijumpai di paparan terumbu karang dengan kedalaman hingga 200 m (Ridhowati, 2016).



Gambar 2.7 *Caulerpa racemosa* (Anggur Laut) (Dwihandita, 2009)

Kelompok alga laut Genus *Caulerpa* mempunyai senyawa metabolit sekunder yang cukup banyak. Metabolit yang dihasilkan dari *Caulerpa* adalah glycoglycerolipid dan kelompok enol. Kandungan lainnya adalah α -1-gliceryl-D-mannoside-4-amonium yang digunakan sebagai antihelminthic, juga alkaloid yang digunakan sebagai penurun tekanan darah (Djapiala, 2015). Komponen bioaktif *Caulerpa* dilaporkan berupa senyawa diterpenoid, triterpenoid dan komponen nitrogen. *Caulerpa* mengandung metabolit dari golongan diterpenoid asiklik yaitu trifarin dan senyawa diterpenoid yaitu kaulerpol yang dikenal sebagai pro-vitamin A atau retinol. Hasil penelitian Aryudhani (2007) menunjukkan bahwa rumpul laut *Caulerpa racemosa* memiliki senyawa fenol sebagai komponen non gizi. Komponen ini diduga berfungsi sebagai antioksidan.

2.3.2 Kandungan Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*)

Caulerpa racemosa merupakan salah satu sumber metabolit sekunder, sekitar 500 senyawa kimia yang berasal dari rumput laut sudah diidentifikasi dan sebagian besar merupakan senyawa bioaktif yang merupakan metabolit sekunder. Metabolit sekunder yang dihasilkan yaitu fenol yang berfungsi sebagai antioksidan (Aryudhani, 2007); flavonol sebagai antibakteri; polisakarida sulfat yang terdiri dari galaktosa, glukosa, arabinosa dan xilosa serta grup hemiester sulfat 9% bersifat sebagai antiviral pada virus herpes tipe 1 dan 2 secara *in vitro* (Ridhowati, 2016); *caulerpin* sebagai anti inflamasi; dan klorofil sebagai antianemia, anti proteolitik, antibakteri, antioksidan, meningkatkan imunitas, menstabilkan tekanan darah, pengganti sel-sel yang rusak, memperbaiki fungsi hati, menyembuhkan luka, dan merangsang fibroblas (Suparmi, 2009). Menurut Apriyanto (2016) klorofil dilaporkan memiliki aktivitas anti virus hepatitis C. Dalam berbagai penelitian *in vitro* ekstrak *Caulerpa racemosa* telah terbukti melakukan aktifitas antioksidan, anti inflamasi, anti mikroba dan imunomodulator (Pirenantyo, 2008).

2.4 Hepar Ayam

1.5.1 Histologi Organ Hepar

Hepar merupakan kelenjar tubuh paling besar yang mendapat vaskularisasi ganda. Vena porta membawa darah berisi makanan yang diserap dari usus dan organ tertentu, sedangkan arteri hepatica memberi darah pada sel hepar dengan darah bersih dan membawa oksigen. Saat memasuki hepar, vena porta dan arteri hepatica bercabang menuju lobus disebut vena interlobaris lalu bercabang lagi membentuk arteri dan vena interlobularis (Ariawan, 2008).

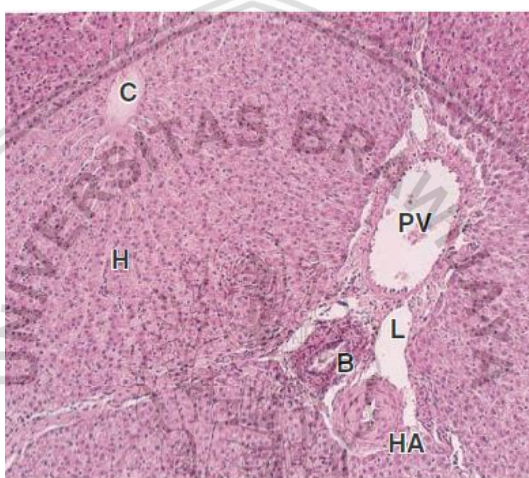
Hepar memiliki dua lobus utama kanan dan kiri. Lobus kanan dibagi menjadi segmen anterior dan posterior bila dilihat dari luar. Lobus kiri dibagi menjadi segmen medial dan segmen lateral oleh ligamentum falsiforme bila dilihat dari luar. Setiap lobus hepar dibagi menjadi struktur-struktur yang disebut lobulus. Unit fungsional dasar hepar adalah lobulus hepar, yang berbentuk silindris dengan panjang beberapa millimeter dan diameter 0,8-2 mm (Kumar, 2013).

Lobulus hepar dikelilingi sebuah vena sentralis yang mengalir ke vena hepatica dan kemudian ke vena cava. Lobulus hepar dibentuk terutama dari banyak lempeng sel hepar yang memencar secara sentrifugal dari vena sentralis. Lempeng hepar tebalnya 1-2 sel dan diantara sel yang bersekatan terdapat kanalikuli biliaris kecil yang mengalir ke duktus biliaris di dalam septum fibrosa yang memisahkan lobulus hepar yang berdekatan. Diantara lempengan sel hepar terdapat kapiler-kapiler yang dinamakan sinusoid hepar, yang merupakan cabang vena porta dan arteri hepatica. Sinusoid dibatasi oleh sel fagositik atau sel kupffer. Sel kupffer merupakan sistem retikuloendotel dan fungsi utamanya adalah memfagositosis bakteri dan benda benda asing dalam darah (Eroschenko, 2003).

Hepar mendapatkan suplai darah dari arteri hepatica yang berisi darah kaya akan oksigen dan dari vena porta yang berisi darah deoksigenasi yang berisi nutrisi, obat-obatan, mikroba dan terkadang bahan toksin yang diabsorpsi dari saluran pencernaan. Cabang dari arteri hepatica maupun vena porta membawa darah ke sinusoid yang kaya oksigen, nutrisi, dan beberapa substansi toksin yang

diterima oleh hepatosit. Produk yang dihasilkan oleh hepatosit dan nutrisi yang dibutuhkan oleh sel lain diekresikan kembali ke darah yang kemudian dialirkan ke vena sentralis melewati vena hepatica

Sel hepar (hepatosit) (**Gambar 2.8**) berbentuk polyhedral, inti berbentuk bulat terletak di tengah, nucleolus berjumlah satu atau lebih dengan kromatin yang menyebar serta sitoplasma hepatosit yang agak berbutir.



Gambar 2.8 Histopatologi organ hepar normal terdiri dari (C) vena central, (H) Hepatosit, (PV) Vena porta, (B) Duktus biliverus, (HA) Arteri hepatica (Eroschenko, 2003)

1.5.2 Fisiologi Hepar

Hepar merupakan kelenjar tubuh paling besar yang mendapatkan vaskularisasi ganda. Hepar unggas terdiri dari lobus kanan dan kiri yang bergabung ke arah cranial di garis bagian tengah. Lobus bagian kanan berukuran lebih besar daripada lobus bagian kiri, setiap lobus memiliki beberapa proses kecil. Hepar tertutup oleh kapsula jaringan ikat yang tipis dan sedikit elastik sehingga memungkinkan adanya pergerakan. Hati disuplai darah melalui arteri hepatica dextra, sinistra, dan vena porta hepatica. Fungsi hepar yaitu sebagai

organ pencernaan, metabolisme karbohidrat, metabolisme metabolit sekunder, sintesis protein dan efek antimikrobia (Ariawan, 2008).

Hepar memiliki peran besar dalam tubuh dan merupakan tempat berbagai penyakit berkembang. Hepar merupakan jembatan penghubung antara saluran pencernaan dengan organ-organ lain pada tubuh, sebab hepar merupakan organ yang memelihara homeostasis metabolisme tubuh. Sistem sirkulasi pada hepar dikenal sebagai sirkulasi portal hepatis yaitu suatu arteri yang terpecah menjadi kapiler yang bergabung menjadi vena yang merupakan saluran penyusun langsung dari vena kava kaudal atau cranial. Darah yang mengalir dari lambung, limfa, usus halus serta pankreas disaring melalui hepar oleh sirkulasi porta hepatis sebelum masuk ke dalam sirkulasi umum. Darah dari wilayah ini menuju vena portal yang merupakan awal dari sistem portal hepatis. Vena portal masuk ke dalam hepar dan terpecah menjadi cabang yang semakin kecil dalam hepar yang berasal dari sinusoid hepar. Selanjutnya darah menuju vena sentral dari setiap lobule hepar. Vena sentral akan membentuk vena hepatis yang mengalirkan darah tersebut ke vena cava caudal (Tortora, 2001)

Darah yang mengalir dari saluran pencernaan terlebih dahulu dilewatkan pada sel hepar sebelum memasuki sirkulasi umum. Hal ini bertujuan agar nutrisi dapat disimpan dalam hepar dan mendetoksifikasi zat yang berbahaya yang telah diserap dari saluran pencernaan. Arteri hepatis yang merupakan cabang arteri seliaka menyalurkan darah yang mengandung oksigen dan nutrisi menuju hepar. Selanjutnya arteri meninggalkan hepar melalui sinusoid hepar, vena sentral dan vena hepatis. Hepar merupakan organ yang multifungsi kompleks, misalnya

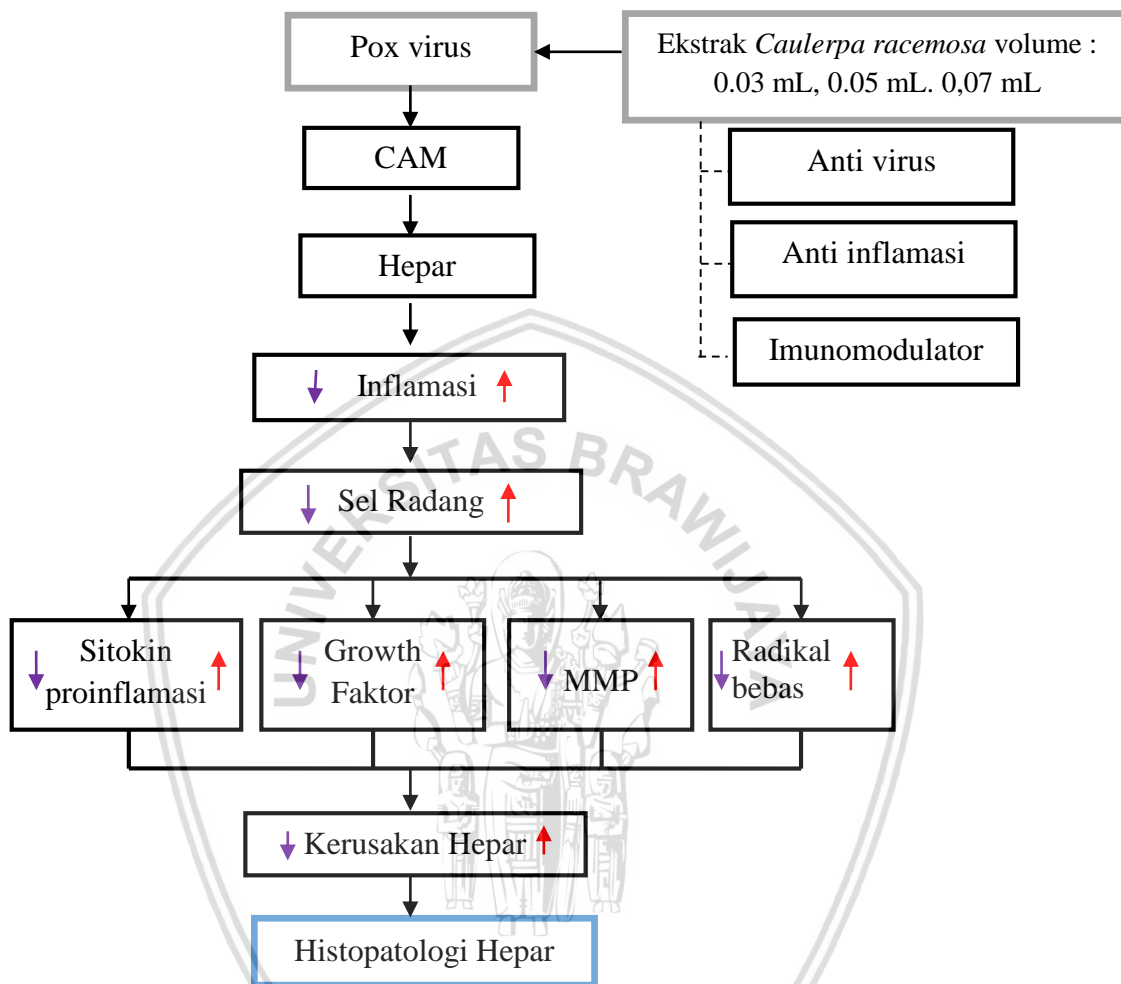
sebagai eksresi (metabolit), sekresi (empedu), penyimpanan (lipid, vitamin A dan B, glikogen), sintesis (fibrinogen, globulin, albumin, protrombin), fagositosis (benda asing), detoksifikasi, metabolisme (protein, hidrat arang, lemak, hemoglobin, obat, dan hemopoiesis (Kumar, 2013).

1.5.3 Fungsi Hepar

Hepar memiliki berbagai fungsi dalam tubuh, fungsi utama hepar meliputi metabolisme lemak, metabolisme karbohidrat, metabolisme protein, penyimpanan dari glikogen, vitamin dan iron, serta berfungsi dalam sekresi dari empedu (Young, 2014). Pada hepar, terdapat kantung empedu (vesika felea) yang mempunyai saluran disebut duktus sistikus. Duktus sistikus dan duktus hepaticus akan bermuara pada saluran besar yang disebut duktus koleodusus (Karmana, 2007). Dalam fungsi detoksifikasi, hepar berperan dalam mendegradasi berbagai senyawa toksin, obat, dan senyawa asing lainnya yang masuk kedalam tubuh. Beberapa dari senyawa toksin atau obat yang masuk kedalam tubuh tidak bersifat hidrofilik, sehingga ginjal tidak bisa mengekskresikan bahan tersebut secara efektif. Oleh karena itu, hepar berfungsi dalam mengubah substansi tersebut menjadi bentuk yang lebih larut dalam air (Pawlina, 2016).

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual

Keterangan :

 : Variabel bebas

- - - : Fungsi atau peran

 : Variabel terikat

↓ : Meningkat

↑ : Menurun

Ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) berpontesi sebagai antivirus, ketika diinokulasikan pada TAB akan menghambat pertumbuhan virus pada fase adhesi atau pada saat virus akan dilepaskan. Virus pox termasuk kedalam virus yang beramplop, sehingga proses adhesi dengan cara fusi yaitu bergabung dengan membran plasma dan melepaskan kapsid ke dalam sel sitoplasma. Virus yang masuk ke dalam sel hospes tidak sepenuhnya di hambat pada fase adhesi, terdapat beberapa protein virus yang akan lolos sehingga akan dihambat pada saat virus dilepaskan. Virus yang memiliki amplop akan berkembang didalam tubuh hospes dan dilepaskan dalam bentuk budding. Bentuk budding tidak menyebabkan kematian pada sel hospes, berbeda dengan virus yang tidak memiliki amplop akan mengalami pemecahan pada sel hospes dan menyebabkan kematian sel.

Ekstrak anggur laut berfungsi sebagai antiinflamasi. Salah satu kandungan pada ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) adalah klorofil yang dapat menghambat terjadinya inflamasi dengan cara menghambat aktivasi dari NF-kB. NF-kB merupakan faktor transkripsi yang berperan dalam respon seluler seperti inflamasi. Saat teraktivasi, NF-kB merangsang transkripsi gen inflamatori sehingga akan terjadi inflamasi. Sel limfosit yang berperan penting dalam sistem kekebalan terbagi menjadi dua, yaitu sel B dan sel T. Sel B di dalam tubuh mamalia secara umum matang dan berdiferensiasi dalam sumsum tulang, sedangkan dalam tubuh unggas sel B matang dan berdiferensiasi dalam bursa fabrisius. Sel T di dalam tubuh mamalia dan unggas matang dan berdiferensiasi pada kelenjar timus. Pada masa embrio hanya sel T yang berkembang pada tubuh unggas. Sel T yang bersirkulasi dalam darah dan limfe dapat secara langsung menghancurkan antigen asing. Sel T

bertanggung jawab atas *cell mediated immunity* atau imunitas seluler. Sel T bergantung pada molekul permukaan yaitu MHC untuk mengenali fragmen antigen (Darmono, 2006).

Virus pox pada unggas terdapat tiga bentuk yaitu bentuk cutaneus, difterik, dan sistemik. Virus pox jika di inokulasikan pada *chorioalantoic membran* telur ayam berembrio umur 9-11 hari akan terbentuk plak dan oedema pada CAM. Virus pox yang diinokulasikan pada CAM akan masuk melalui pembuluh darah menuju ke hepar dan akan menyebabkan inflamasi dan kerusakan pada hepar. Inflamasi pada hepar akan menghasilkan radikal bebas sehingga radikal bebas akan mengaktifkan faktor transkripsi NF-kB dan menghasilkan sitokin proinflamasi. Pada tahap selanjutnya, sel endotel diaktifkan yang mendorong sintesis mediator inflamasi dan molekul adhesi. Akhirnya radikal bebas mengarahkan efek toksik pada tempat peradangan dengan mengaktifkan jalur MMP dan *growth factor* yang menyebabkan terbentuknya jaringan baru.

1.1 Hipotesa Penelitian

Berdasarkan rumusan permasalahan, maka hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*) dapat sebagai anti virus pox berdasarkan gambaran histopatologi hepar
2. Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*) mampu menurunkan jumlah sel radang

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret–April 2018 yang bertempat di beberapa laboratorium yaitu :

1. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya untuk pemeliharaan dan perlakuan pada TAB
2. Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk pembuatan ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*)
3. Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya untuk pembuatan preparat dengan pewarnaan HE

4.2 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain, tray telur, cawan petri, spuit, pelubang telur, mortal, saringan, timbangan, kertas saring, sterofoam, micropipette, tabung falcon, peneropong telur, sentrifus, bulb, corong pisah, sarung tangan (glove), scalpel, pinset anatomis, pinset chirurgis, gunting tajam-tajam, gunting tajam-tumpul, *object glass*, *cover glass* rak kaca objek, autoclave, gelas ukur, inkubator telur, kapas, selotip, pot organ, spuit 1 mL, dan *software* Optilab viewer.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah telur ayam berembrio, virus pox, antibiotik penicillin streptomycin, larutan xylol, NaCl fisiologis, alkohol bertingkat 70%, 80%, 90%, 95%, xylol, ekstrak anggur laut *Caulerpa racemosa*, formalin 10%, pewarna hematoxilin eosin, dan aquades.

4.3 Tahapan Penelitian

1. Persiapan hewan coba
2. Pembuatan ekstrak *Caulerpa racemosa*
3. Isolasi virus pox
4. Inokulasi ekstrak *Caulerpa racemosa* dengan volume 0.03 mL, 0.05 mL dan 0.07 mL
5. Inokulasi virus pox sebanyak 0,2 mL
6. Pembuatan preparat histopatologi
7. Menghitung jumlah sel radang
8. Analisis data.

4.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan Acak Lengkap digunakan apabila ragam satuan percobaan yang digunakan homogen atau seragam. TAB dibagi menjadi 5 kelompok dan masing-masing 4 ulangan berdasarkan rumus menurut Kusniningrum (2008):

$$t(n-1) \geq 15$$

Keterangan :

$$5(n-1) \geq 15$$

t : Jumlah perlakuan

$$5n - 5 \geq 15$$

n : Jumlah ulangan yang diperlukan

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

TAB dalam penelitian ini dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan diantaranya, kelompok kontrol negatif (KN), kelompok kontrol positif (KP),

kelompok P1 (TAB di inokulasi dengan ekstrak anggur laut sebanyak 0,03 ml kemudian di infeksi dengan pox virus 0.2 ml), kelompok P2 (TAB di inokulasi dengan ekstrak anggur laut sebanyak 0,05 ml kemudian di infeksi dengan pox virus 0.2 ml), dan kelompok P3 (TAB di inokulasi dengan ekstrak anggur laut sebanyak 0,07 ml kemudian di infeksi dengan pox virus 0.2 ml). Rancangan penelitian dapat dilihat pada **Tabel 4.4** .

Tabel 4.4 Rancangan Penelitian

Kelompok Perlakuan	Perlakuan
Kelompok (KN)	TAB umur 11 hari sehat tanpa inokulasi virus pox dan ekstrak anggur laut
Kelompok (KP)	TAB dengan umur 11 hari diinokulasi dengan pox virus sebanyak 0.2 mL
Kelompok P1	TAB umur 11 hari diinokulasi dengan ekstrak anggur laut sebanyak 0,03 mL kemudian di infeksi dengan pox virus 0.2 mL
Kelompok P2	TAB umur 11 hari diinokulasi dengan ekstrak anggur laut sebanyak 0,05 mL kemudian di infeksi dengan pox virus 0.2 mL
Kelompok P3	TAB umur 11 hari diinokulasi dengan ekstrak anggur laut sebanyak 0,07 mL kemudian di infeksi dengan pox virus 0.2 mL

4.5 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

Variabel bebas : Volume virus pox dan volume ekstrak *Caulerpa racemosa*

Variabel terikat : Gambaran histopatologi hepar dan jumlah sel radang

Variabel kontrol : Umur telur ayam berembrio, suhu inkubator, kelembapan inkubator

4.6 Prosedur Kerja

4.6.1 Persiapan TAB

Telur ayam berembrio yang berumur 10 hari yang akan digunakan diperiksa terlebih dahulu di dalam ruangan gelap dengan teropong telur. Hal ini bertujuan untuk menentukan fertilitas telur dan untuk memastikan keadaan embrio masih dalam keadaan sehat. Caranya adalah dengan melihat gerakan embrio, kantung hawa, dan mengamati keadaan pembuluh darahnya yang masih tampak merah. Setelah didapatkan telur yang sehat maka langkah selanjutnya telur didesinfeksi menggunakan alkohol. Telur ayam berembrio yang telah bersih diletakkan ke dalam inkubator telur dengan suhu 38°C dengan kelembapan 6% (Kristianingrum, 2015).

4.6.2 Pembuatan Ekstrak *Caulerpa racemosa*

Anggur laut yang sudah di ambil langsung dari laut dimasukan kedalam box styrofoam untuk membuat anggur laut (*Caulerpa racemosa*) tetap segar dan saat di lakukan pengekstrakan tidak terjadi pengurangan metabolit sekunder dari anggur laut. Selanjutnya *Caulerpa racemosa* dicuci bersih menggunakan air untuk menghilangkan kotoran seperti pasir, lendir dan lainnya. Setelah *Caulerpa racemosa* dibersihkan langsung dihaluskan dengan cara ekstraksi menggunakan mortar (Dimara, 2011).

Dilakukan ekstraksi pada sampel yang masih segar dengan cara dihalus menggunakan mortal, hal itu digunakan untuk memisahkan lendir-lendir dari

selaput hijau sampel, kemudian ditimbang sebanyak 100 gram menggunakan timbangan analitik. Proses ekstraksi menggunakan pelarut aseton dan metanol dengan perbandingan 3:7, ekstrak disaring menggunakan kertas saring (Aryudhani, 2007).

4.6.3 Isolasi Pox Virus

Isolasi pox virus dilakukan dengan cara memilih ayam dengan gejala klinis terserang penyakit pox yaitu terdapat nodul pada daerah wajah yang tidak ditumbuhi bulu. Prosedur nekropsi dilakukan untuk melihat organ yang terkena virus pox untuk diisolasi, ayam dimatikan terlebih dahulu dengan cara *dislokasio os occipital*. Insisi didaerah kulit yang longgar diantara permukaan medial dari tiap paha dan abdomen. Lakukan insisi sebagian dalam sampai semua organ terlihat dan periksa organ-organ target yang mengalami atau tampak adanya perubahan patologis. Pada bagian kepala ambil nodul pada kulit ayam untuk dilakukan koleksi sampel. Setelah dikoleksi sampel yang diduga terkena virus pox lalu dilakukan isolasi (Weli, 2011).

Lesi yang telah di ambil selanjutnya dilakukan pembuatan suspensi 10%. Potong dan timbang organ sebanyak 10gr kemudian masukkan dalam mortar dan penggerus. Gerus organ hingga hancur kemudian tambahkan larutan pengencer sebanyak 100 ml. Tambahkan antibiotik penstrep kemudian pindahkan suspensi ke dalam tabung. Lakukan sentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Diambil supernatan kemudian pindahkan ke dalam tube eppendorf. Simpan dalam suhu dingin (*freezing*) sebelum dilakukan pengujian (Gilhare, 2015).

4.6.4 Inokulasi Ekstrak *Caulerpa racemosa* dan Inokulasi Pox Virus

Teknik inokulasi spesimen virus pox dilakukan pada membran chorioalantois telur ayam berembrio pada umur 9-11 hari. Inokulasi pada membrane chorioalantois tersebut dilakukan dengan spuit ukuran 1 mL dengan jarum 25 gauge. Teropong telur ayam berembrio terlebih dahulu untuk memastikan letak embrio dan kantung udara. Pada kantung udara ditandai dengan pensil dan lubang menggunakan pelubang telur. Buatlah lubang ke dua pada lokasi embrio. Teteskan larutan fisiologi steril agar membran chorioalantois terlepas. Sedot udara dengan menggunakan penyedot melalui lubang kantung udara agar terbentuk rongga pada membran.

Apabila membran telah turun kebawah ekstrak *Caulerpa racemosa* diinokulasikan dengan volume berbeda pada setiap perlakuan yaitu 0,03 mL, 0,05 mL dan 0,07 mL pada telur ayam berembrio dengan umur 10 hari. Setelah 24 jam kemudian suspensi virus dapat diinokulasikan sebanyak 0,2 mL dengan cara ditetaskan secara perlahan pada TAB umur 11 hari. Tutup kedua lubang menggunakan selotip. Telur ayam berembrio yang telah diinokulasi tersebut kemudian diinkubasi pada inkubator penetas telur pada suhu 37°C dengan posisi horizontal dan tempat inokulasi berada diatas. Pengamatan dilakukan setiap hari sampai hari ke 7 atau telur ayam berembrio telah berumur 17 hari. Apabila terdapat embrio mati dalam waktu 16 sampai 24 jam pasca inokulasi dapat diabaikan karena dianggap sebagai *human error* atau kontaminasi bakteri. Embrio yang mati setelah

24 jam diambil dan diletakkan di kulkas dengan suhu 4°C. Pada hari ke 7 semua telur yang hidup dipecahkan untuk dilakukan pengambilan sampel organ.

4.6.5 Pengambilan dan Pembuatan Preparat Histopatologi

TAB yang telah mati dipecah secara perlahan dengan gunting steril dibuka pada posisi horizontal kemudian letakkan TAB pada cawan petri. Bedah bagian abdomen embrio untuk mengambil sampel hati, sampel dibersihkan dengan NaCl fisiologis 0,9%. Hati direndam pada larutan formalin 10% selama 24 jam. Tahapan pembuatan preparat histopatologi hepar terdiri dari fiksasi, dehidrasi, clearing, impregnasi, dan *embedding* (Ashari, 2013).

A. Fiksasi

Jaringan dimasukkan dalam larutan formalin 10%. Lamanya fiksasi jaringan 18-24 jam. Setelah fiksasi selesai, jaringan dimasukkan dalam larutan aquades selama 1 jam agar larutan fiksasi hilang. Fiksasi bertujuan sebagai pengawetan jaringan dan menghambat proses pembusukan, serta untuk mempertahankan sel atau jaringan agar tidak mengalami perubahan bentuk maupun ukuran.

B. Dehidrasi

Jaringan dimasukkan ke dalam alkohol konsentrasi bertingkat (alkohol 70, 80, 90, 95%, dan alkohol absolut) dengan menggunakan alat *dehydrator autotechnicon* selama 2 jam. Dehidrasi adalah proses penarikan molekul air dari dalam jaringan. Tujuan dari dehidrasi adalah agar seluruh ruang-ruang antar sel dalam jaringan dapat diisi dengan molekul parafin. Dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat dari presentase rendah ke presentase tinggi. Hal ini dilakukan untuk menjaga agar tidak terjadi perubahan tiba-tiba pada sel dan jaringan.

C. *Clearing*

Jaringan kemudian dimasukkan ke dalam larutan *alkohol-xylol* selama 1 jam, kemudian larutan *xylol* murni selama 4 jam. *Clearing* adalah proses penjernihan atau mentransparankan jaringan. *Clearing* berfungsi untuk menarik alkohol atau dehidran yang lain dari dalam jaringan agar dapat digantikan oleh molekul parafin.

D. Impregnasi

Potongan jaringan dimasukkan dalam parafin cair. Impregnasi dapat juga disebut infiltrasi parafin yaitu proses pengeluaran *xylol* dari dalam jaringan yang akan digantikan oleh parafin cair.

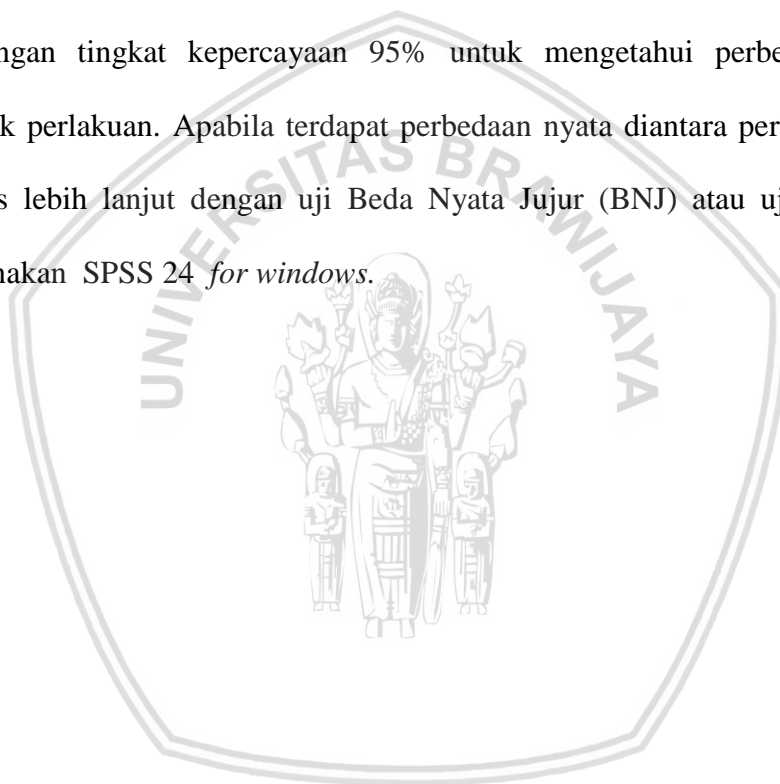
E. *Embedding*

Potongan jaringan dalam parafin padat dengan titik lebur 56-58 °C, ditunggu hingga parafin menjadi padat. Jaringan dalam parafin dipotong 4 mikron dan ditempelkan pada *object glass* dan dipanaskan dalam inkubator dengan suhu 60 °C hingga parafin mencair. *Embedding* merupakan proses penanaman jaringan ke media parafin. Tujuannya adalah untuk mempermudah dalam melakukan proses pemotongan atau pengirisan sampel. Setelah itu dilakukan pewarnaan dengan menggunakan pewarnaan HE (Hematoksilin-eosin).

Perhitungan sel radang dilakukan dengan menghitung jumlah sel neutrofil, limfosit dan sel kupfer pada sediaan histopatologi menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. Perhitungan dilakukan sebanyak 5 lapang pandang (Zayyan, dkk., 2016).

4.7 Analisa Data

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah gambaran histopatologi hepar dan jumlah sel radang. Analisa gambaran histopatologi hepar dilakukan secara kualitatif dengan mengamati kerusakan sel-sel hepar menggunakan mikroskop kemudian difoto menggunakan *Optilab Image Viewer*, selanjutnya dilejaskan secara deskriptif. Analisa data untuk jumlah sel radang hepar dilakukan secara statistik menggunakan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) satu arah dengan tingkat kepercayaan 95% untuk mengetahui perbedaan antara kelompok perlakuan. Apabila terdapat perbedaan nyata diantara perlakuan maka dianalisis lebih lanjut dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) atau uji *Tukey test* menggunakan SPSS 24 *for windows*.



BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Kasus Lapang Cacar Unggas

Cacar unggas adalah penyakit yang disebabkan oleh virus *fowl pox* yang menyerang unggas. Pada penelitian ini isolat virus didapatkan dari kasus lapang yang terjadi pada peternakan ayam layer di Blitar Jawa Timur. Gejala klinis yang ditimbulkan dari infeksi virus pox adalah adanya nodul pada kulit di sekitar mata dan wajah (**Gambar 5.1**), letargi, nafsu makan turun dan penurunan produksi telur. Hal ini sesuai menurut Pudjiatmoko (2014) bahwa ayam yang terinfeksi virus pox tipe cutaneus akan muncul gejala klinis berupa adanya nodul di sekitar mata, wajah, dan kaki.



Gambar 5.1 Ayam terinfeksi virus pox terlihat nodul pada sekitar mata dan area wajah

5.2 Penelitian Pendahuluan untuk Menentukan Volume Ekstrak

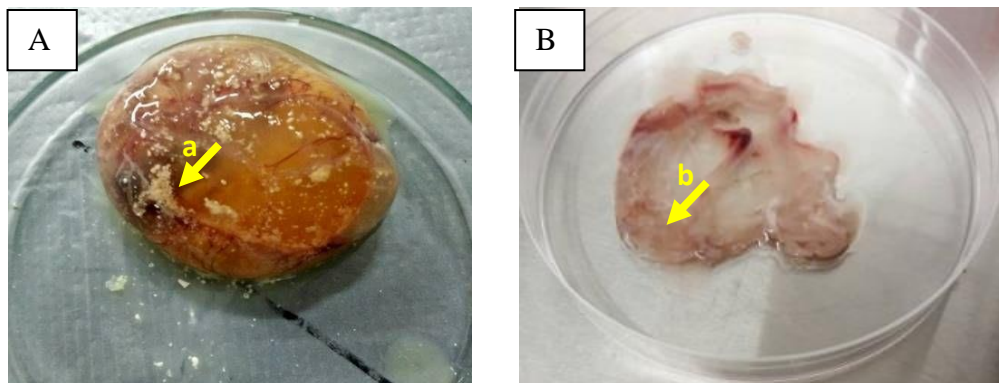
Penelitian ini merupakan lanjutan dari penelitian pendahuluan yang telah dilakukan sebelumnya. Pada penelitian sebelumnya telur ayam berembrio diinokulasi dengan volume ekstrak anggur laut P1 0.1 mL, P2 0.15 mL, dan P3 0.2 mL dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Pada volume ekstrak anggur laut 0,1 mL dan 0,15 mL TAB hidup selama 2 hari pasca inokulasi dilihat dari

pembuluh darah, kantung hawa, dan embrio. Pada volume ekstrak anggur laut 0,2 mL TAB mati sebelum 24 jam. Dapat dikatakan bahwa pada ekstrak anggur laut dengan volume 0.2 mL toksik terhadap TAB, sehingga volume ekstrak anggur laut diturunkan menjadi 0.03 mL, 0.05 mL, dan 0.07 mL.

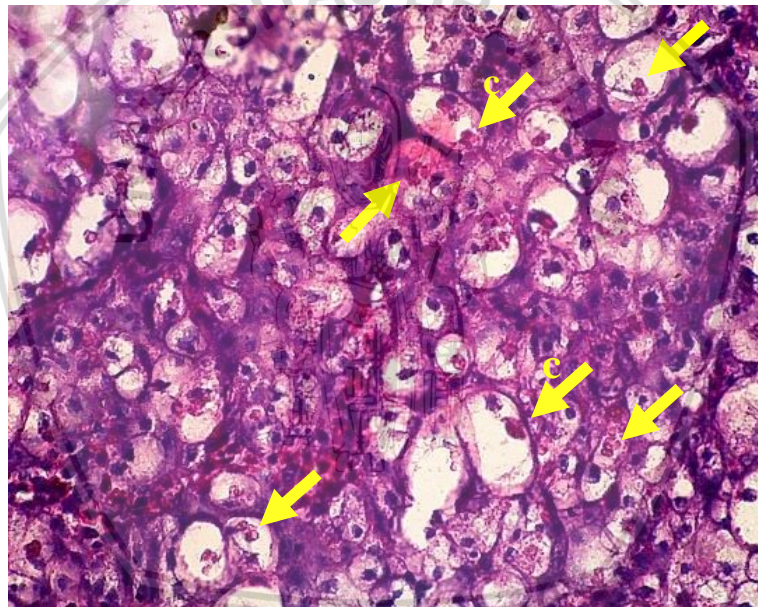
5.3 Isolasi Virus Pox Isolat Lapang

5.3.1 Gambaran Makroskopis dan Mikroskopis CAM

Hasil penelitian pengaruh ekstrak anggur laut terhadap virus pox pada pemeriksaan makroskopis CAM didapatkan hasil pada kontrol positif terdapat lesi berwarna putih, edema dan penebalan (**Gambar 5.2**) pada CAM. Hal ini sesuai dengan pernyataan menurut Gilhare (2015) pada pemeriksaan makroskopis CAM yang terinfeksi virus pox terdapat lesi berwarna putih, edema dan penebalan. Beberapa CAM yang terinfeksi biasanya juga menunjukkan adanya kongesti dan hemoragi pada beberapa area. Pada gambaran histopatologi CAM kontrol positif (**Gambar 5.3**) menunjukkan adanya benda inklusi pada membran intrasitoplasma. Hal ini sesuai menurut pernyataan Gilhare (2015) bahwa gambaran histopatologi CAM yang terinfeksi virus pox menunjukkan adanya benda inklusi pada membran intrasitoplasma, hiperplasia dan hipertropi pada sel epitel. Benda inklusi adalah substansi agregat protein yang stabil dari nuklear atau sitoplasma, pada virus biasanya merupakan multifikasi virus yang terdiri dari protein kapsid virus (Fahnert, 2004). Hal ini dapat dikatakan bahwa TAB terinfeksi virus pox dilihat dari adanya benda inklusi eosinofilik pada intrasitoplasma pada CAM.



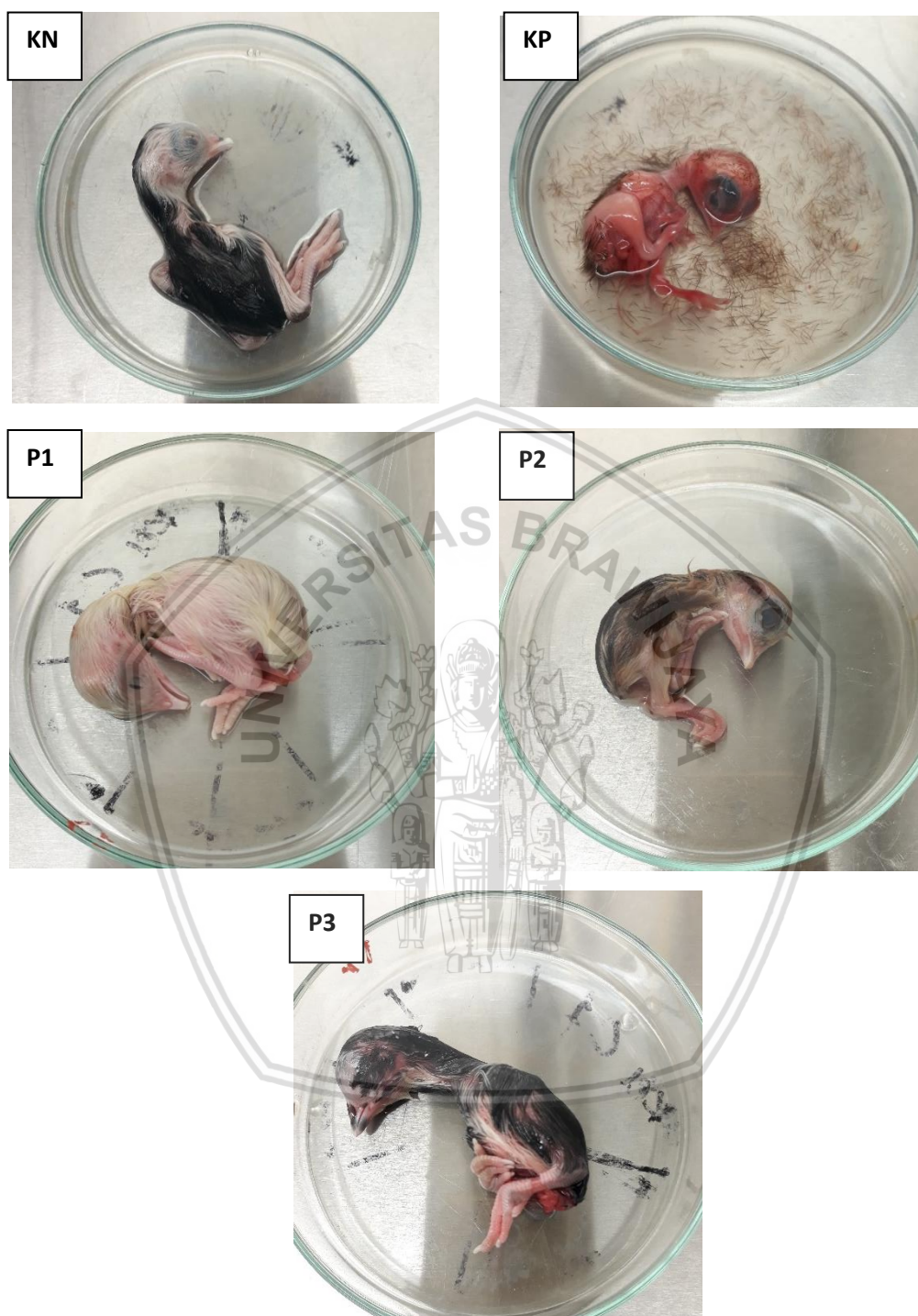
Gambar 5.2 Makroskopis CAM kontrol positif (A) terbentuk plaque (a) berwarna putih pada CAM yang terinfeksi virus pox, (B) Oedema (b) dan penebalan dari CAM yang terinfeksi virus pox



Gambar 5.3 Histopatologi CAM kontrol positif menunjukkan adanya benda inklusi (c) pada intrasitoplasmic membran

5.3.2 Gambaran Makroskopis Embrio Ayam

Hasil pengamatan makroskopis embrio ayam umur 17 hari pada kontrol negatif telur ayam berembrio yang sehat tanpa diinokulasi virus pox dan ekstrak anggur laut (**Gambar 5.4 KN**) tidak ditemukan kelainan apapun. Embrio ayam tumbuh secara normal dan pada kulit sudah tumbuh bulu. Awal pertumbuhan bulu pada kulit embrio ayam dimulai pada umur ke 11 hari (Putra, 2012). Pada kontrol positif telur ayam berembrio yang diinokulasi virus pox 0.02 mL (**Gambar 5.4 KP**) menunjukkan bahwa infeksi virus pox menyebabkan embrio ayam mengalami bulu rontok, tubuh mengalami kekerdilan, dan hemoragi. Sedangkan pada embrio ayam perlakuan 1, 2, dan 3 yang diinokulasi ekstrak anggur laut dengan volume 0.03 mL, 0.05 mL, dan 0.07 mL pada TAB umur 10 hari kemudian setelah 24 jam diinokulasi virus pox 0.2 mL (**Gambar 5.4 P1, P2, P3**) menunjukkan pertumbuhan ayam normal, ukuran embrio ayam normal dan embrio juga tidak mengalami hemoragi. Embrio ayam yang terinfeksi virus akan menghambat proses pertumbuhan jaringan sehingga embrio ayam akan terlihat lebih kecil, hemoragi di seluruh bagian tubuh, dan kerontokan bulu embrio (Wibowo *et al*, 2006).



Gambar 5.4 Embrio Ayam

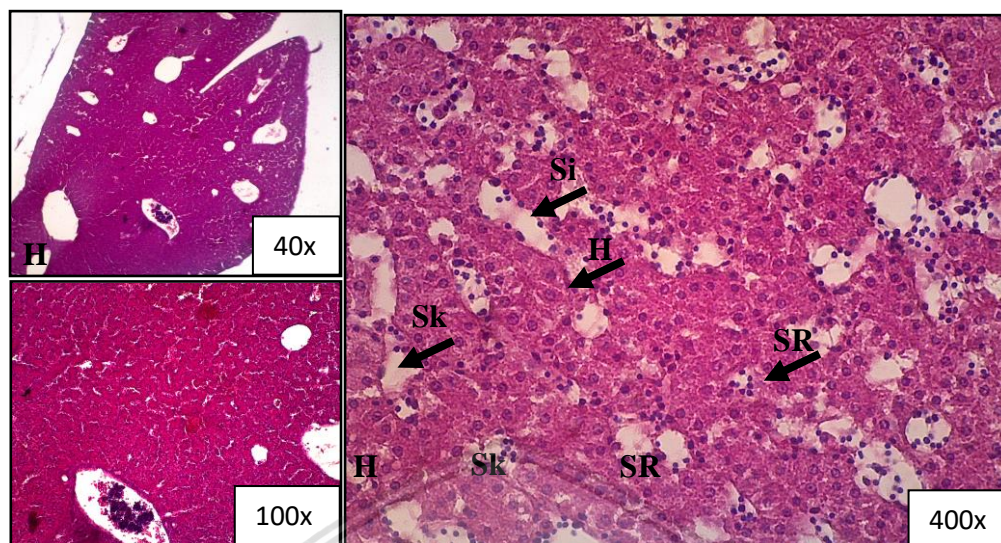
KN = kontrol negatif (TAB sehat), **KP** = kontrol positif (TAB diinokulasi virus pox 0.2 mL), **P1** = Perlakuan 1 (TAB diinokulasi ekstrak anggur laut 0,03 mL dengan pox virus 0.2 mL), **P2** = Perlakuan 2 TAB diinokulasi ekstrak anggur laut 0,05 mL dengan virus pox 0.2 mL), **P3** = Perlakuan 3 (TAB diinokulasi ekstrak anggur laut 0,07 mL dengan virus pox 0.2 mL).

5.4 Pengaruh Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa rasemosa*) Terhadap Virus Pox Berdasarkan Histopatologi Hepar

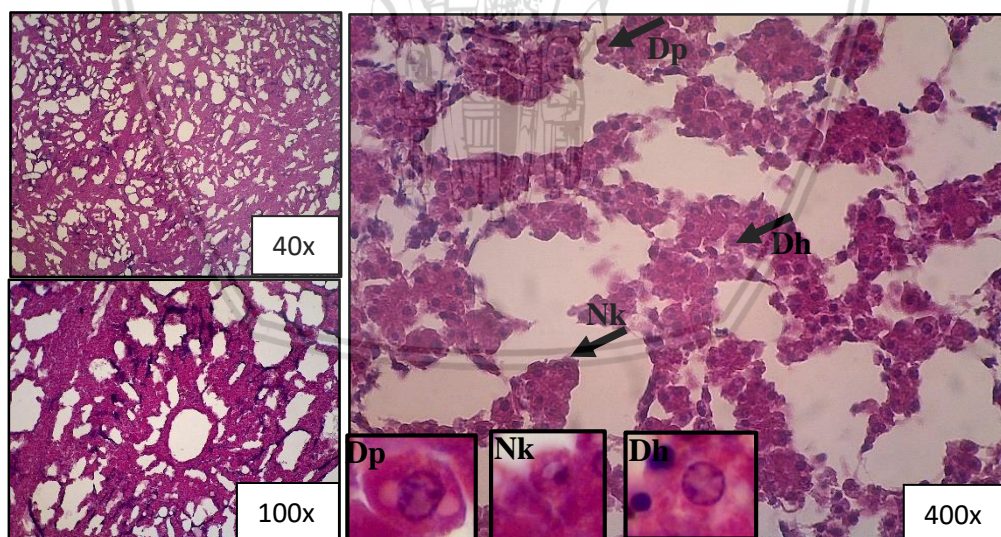
Hasil penelitian pengaruh ekstrak anggur laut terhadap virus pox pada pemeriksaan terhadap gambaran histopatologi hepar dilakukan dengan pewarnaan *hematoxyline eosin* (HE) dianalisa secara deskriptif menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Gambaran histologi hepar pada kontrol negatif berupa sel hepatosit berbentuk polyhedral dengan inti bulat ditengah, terdapat kapiler-kapiler diantara sel-sel hepar yang disebut sinusoid, ditemukan sel kupfer pada sinusoid hepar, tidak ditemukan adanya perubahan pada sel-sel hepar (**Gambar 5.5**). Hepar normal terdiri dari sel-sel hepar (hepatosit). Hepatosit tersusun berupa ribuan lobulus hati kecil berbentuk polyhedral yang merupakan unit fungsional. Diantara sel hepar terdapat kapiler-kapiler yang disebut sinusoid. Pada beberapa sinusoid akan ditemukan sel kuppfer, yang merupakan makrofag normal yang ditemukan di hepar (Adeyi *et al*, 2013). Histopatologi hepar pada kelompok kontrol negatif dapat dijadikan sebagai patokan adanya perubahan dan kerusakan yang terjadi pada perlakuan lainnya.

Hasil pengamatan pada kelompok kontrol positif (**Gambar 5.6**) yang di inokulasi virus pox 0.2 mL dan tanpa pemberian ekstrak terlihat adanya perubahan pada sel hepar yaitu sel mengalami nekrosis kariolisis, dilatasi sinusoid, dan hepatosit mengalami degenerasi hidrofis dan degenerasi parenkim. Menurut Shivaprasad (2009) virus pox dapat menyerang pada organ hepar, sehingga hepar mengalami inflamasi. Pada gambaran histopatologi hepar yang terinfeksi virus pox akan terjadi degenerasi dan nekrosis (Beytut, 2009). Pada

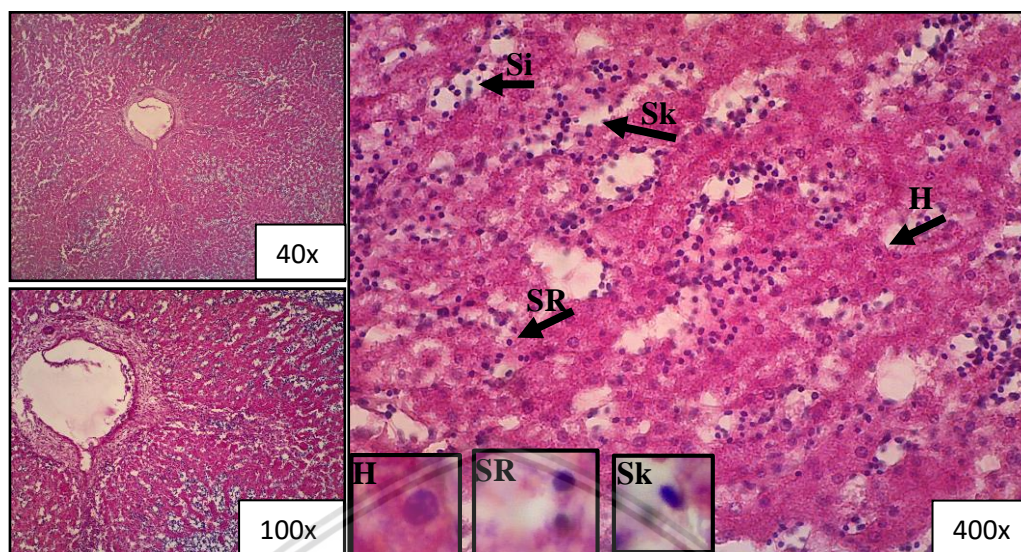
kelompok dengan ekstrak anggur laut 0.03 mL dan virus pox 0.2 mL (**Gambar 5.7**), sel hepatosit normal lebih mendominasi di berbagai tempat. Pada kelompok dengan ekstrak anggur laut 0.05 mL dan virus pox 0.2 mL (**Gambar 5.8**) hepatosit normal lebih banyak terlihat, namun juga masih terdapat hepatosit yang mengalami nekrosis dalam bentuk kariolisis hanya di beberapa tempat tidak sebanyak kelompok kontrol positif, sel radang terlihat cukup banyak jika dibandingkan dengan perlakuan 1. Pada kelompok dengan ekstrak anggur laut 0.07 mL dan virus pox 0.2 mL (**Gambar 5.8**), populasi hepatosit yang mengalami nekrosis kariolisis sedikit, masih terdapat degenerasi hidrofis di beberapa tempat, sel radang terlihat cukup banyak jika dibandingkan dengan perlakuan 2 dan perlakuan 1. Gambaran histopatologi hepar pada perlakuan pemberian ekstrak anggur laut sebanyak 0.03 mL, 0.05 mL dan 0.07 mL menunjukkan adanya penghambatan kerusakan sel hepatosit jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif perubahan pada sel hepatosit seperti degenerasi hidrofis, degenerasi parenkim dan nekrosis kariolisis lebih sedikit. Pada kelompok perlakuan 1 terdapat infiltrasi sel radang tetapi tidak sebanyak infiltrasi sel radang pada kelompok perlakuan 2 dan kelompok perlakuan 3. Pada kelompok perlakuan 1 yang diberi ekstrak anggur laut sebanyak 0.03 menunjukkan gambaran sel-sel hepatosit normal.



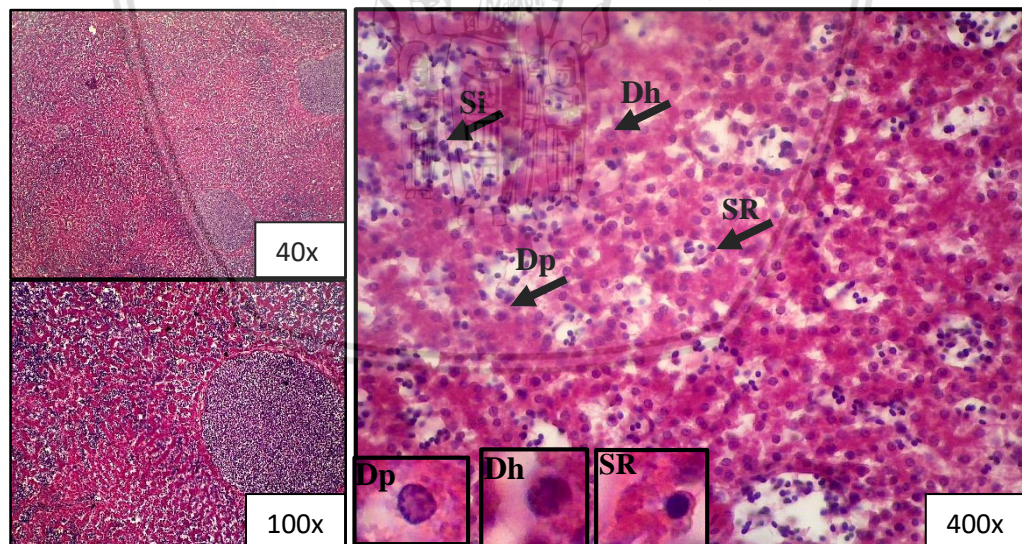
Gambar 5.5 Histopatologi hepar kontrol negatif terdapat sel kupfer (Sk), hepatosit (H), Sinusoid (Si) dan Sel radang (SR). Pewarnaan HE 400x



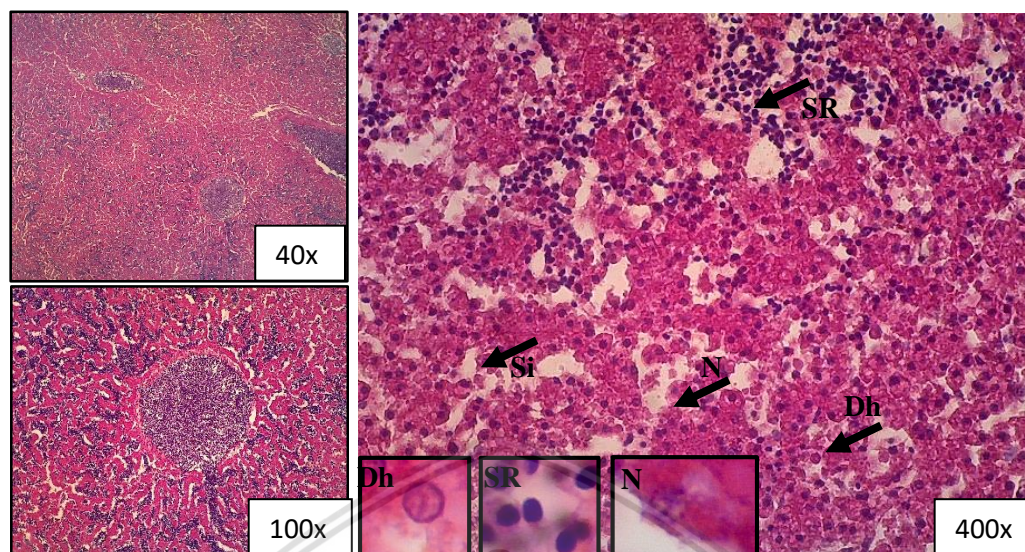
Gambar 5.6 Histopatologi hepar kontrol positif menunjukkan adanya nekrosis kariolisis (Nk), degenerasi parenkim (Dp), dan degenerasi hidrofis (Dh). Pewarnaan HE 400x.



Gambar 5.7 Histopatologi hepar kelompok perlakuan 1 (TAB diinokulasi ekstrak anggur laut 0,03 mL dengan pox virus 0.2 mL) terdapat sel kupfer (Sk), hepatosit (H), Sinusoid (Si) dan Sel radang (SR). Pewarnaan HE 400x



Gambar 5.8 Histopatologi hepar kelompok perlakuan 2 (TAB diinokulasi ekstrak anggur laut 0.05 mL dengan pox virus 0.2 mL) terdapat degenerasi hidrofis (Dh) dan degenerasi parenkim (Dp). Pewarnaan HE 400x



Gambar 5.9 Histopatologi hepar kelompok perlakuan 3 (TAB diinokulasi ekstrak anggur 0.07 mL dengan pox virus 0.2 mL) terdapat dedenerasi parenkim (Dh) dan nekrosis kariolisis (N). Pewarnaan HE 400x

Gambaran histopatologi pada penelitian ini menunjukkan bahwa infeksi virus pox pada TAB dapat merusak sel hepar. Kerusakan yang terjadi pada kelompok kontrol positif (**Gambar 5.6**) berupa nekrosis kariolisis, dilatasi sinusoid, degenerasi hidrofis dan parenkim. Degenerasi sel adalah kehilangan struktur normal sebelum kematian sel. Degenerasi hidropik terjadi karena hidrasi ion natrium akibat permeabilitas dinding sel yang terganggu, akibatnya hepatosit tidak memiliki kemampuan dalam memompa ion natrium ke luar dari sel. Jumlah ion natrium yang berlebihan akan menyebabkan influks air yang besar sehingga sebagian organel sitoplasma dapat diubah menjadi kantong-kantong berisi air (Wulandari, dkk., 2007).

Degenerasi parenkim diakibatkan oleh kegagalan oksidasi yang disebabkan karena terganggunya transport protein dari ribosom sehingga terjadi penimbunan air pada sitoplasma. Pada gambaran mikroskopis degenerasi

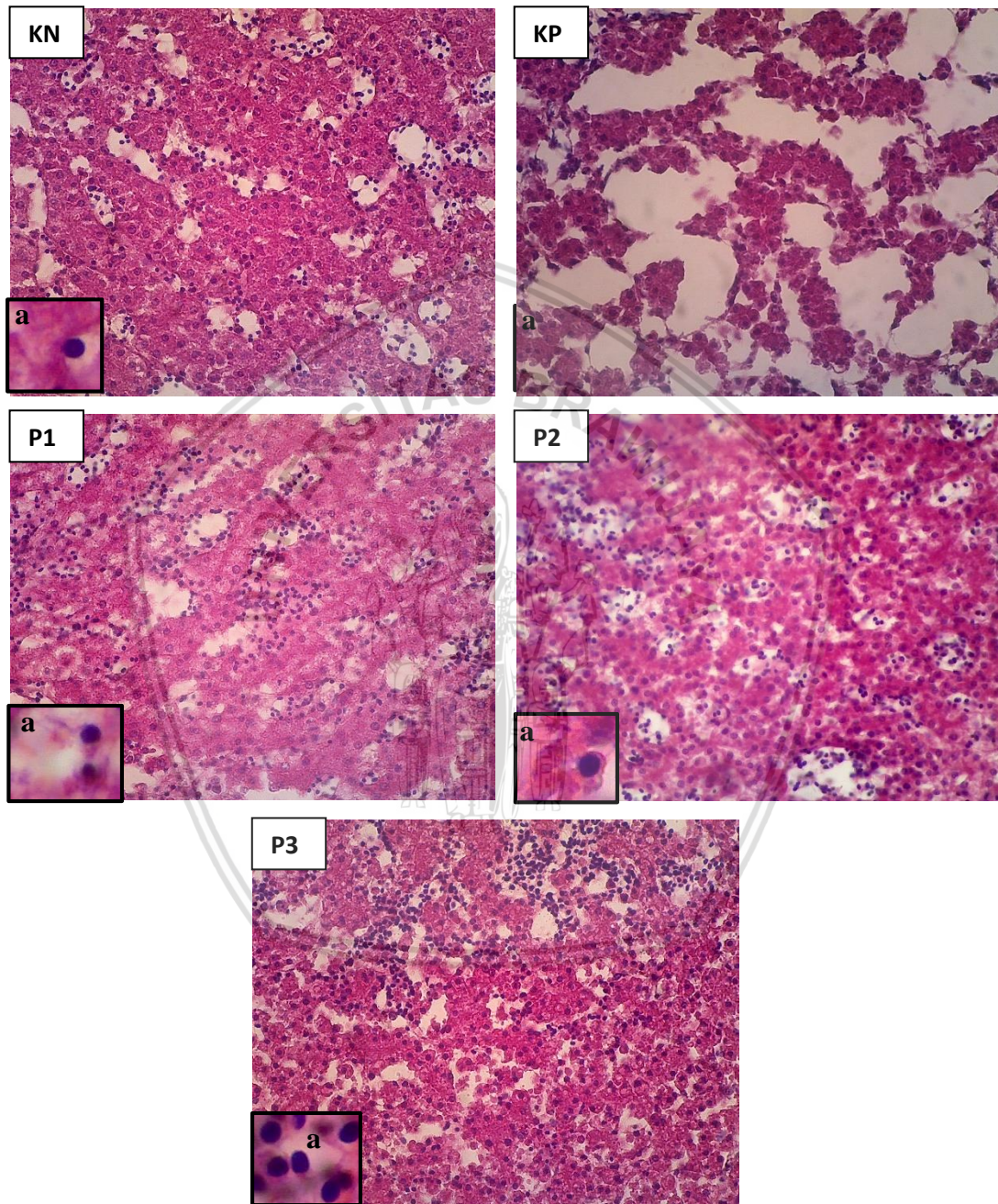
parenkim, akan terlihat adanya granular-granular yang tersebar di dalam sitoplasma, dan ukuran inti sel lebih besar daripada sel normal, karena sel menjadi membengkak (Wulandari, dkk., 2007). Degenerasi merupakan perubahan yang bersifat *reversible*, sehingga apabila infeksi virus pox pada sel dapat dihentikan, maka sel yang mengalami degenerasi akan kembali normal. Namun apabila degenerasi berlangsung terus-menerus akan menyebabkan kematian sel (nekrosis) yang bersifat *irreversible* (Robbins, *et al.*, 2004).

Nekrosis merupakan sel-sel yang mempunyai aktivitas sangat rendah dan akhirnya mengalami kematian sel jaringan sehingga menyebabkan kehilangan fungsi pada daerah tersebut. Pada hasil gambaran histologi (**Gambar 5.6**) nekrosis yang terjadi pada sel adalah kariolisis dan piknosis. Kariolisis ditandai dengan bagian inti sel yang sudah tidak tampak dan tidak dapat diwarnai atau hilang (Lubis, dkk., 2014). Piknosis ditandai dengan mengecilnya inti sel, dan DNA berkondensasi menjadi massa padat (Robbins, *et al.*, 2004). Karioreksis adalah salah satu jenis nekrosis yang ditandai dengan inti sel yang hancur, membentuk fragmen-fragmen kecil yang menyebar, dan membran inti sel yang mengalami lisis sehingga tidak terlihat batas inti sel (Arimbi, dkk., 2015).

Hasil pengamatan histopatologi hepar TAB yang diinokulasi virus pox 0.2 mL dengan ekstrak anggur laut volume 0.03 mL (**Gambar 5.7**) menunjukkan banyak perubahan dibandingkan dengan gambaran histopatologi hepar tikus kelompok kontrol positif, yaitu jarang dijumpai nekrosis kariolisis, infiltrasi sel radang, dan sel hepatosit normal lebih mendominasi diberbagai tempat menunjukkan perubahan menyerupai kontrol negatif. Pada perlakuan 1

menunjukkan gambaran histopatologi hepar mendekati normal karena diberikan ekstrak anggur laut 0.03 mL yang memiliki kandungan klorofil sebagai anti virus, sehingga dapat menghambat dari replikasi virus pox. Sedangkan hasil pengamatan histopatologi hepar TAB yang diinokulasi virus pox 0.2 mL dengan ekstrak anggur laut volume 0.05 mL (**Gambar 5.8**) menunjukkan perubahan yaitu masih terdapat nekrosis dalam bentuk kariolisis di beberapa tempat, serta sel hepatosit normal dan banyaknya infiltrasi sel radang. Kemudian hasil pengamatan histopatologi hepar TAB yang diinokulasi virus pox 0.2 mL dengan ekstrak anggur laut volume 0.07 mL (**Gambar 5.9**) menunjukkan masih terdapat degenerasi dan nekrosis pada gambaran histopatologi hepar dan banyak infiltrasi sel radang. Menurut Guyton and Hall (1997), nekrosis yang terjadi pada hepar merupakan pengaruh langsung agen yang bersifat toksik. Zat kimia yang terlalu banyak masuk kedalam tubuh, dapat mengakibatkan kerusakan sel hepar, infiltrasi sel radang, dan degenerasi. Pada perlakuan 2 dan perlakuan 3 dianggap toksik karena masih terdapat nekrosis dan degenerasi sel, ini terjadi karena pada ekstrak anggur laut terdapat senyawa caulerpin, senyawa caulerpin ini dapat menghilangkan beberapa senyawa bioaktif yang terkandung di dalam anggur laut (Suparami, 2009).

5.5 Pengaruh Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*) Terhadap Virus Pox Berdasarkan Jumlah Sel Radang



Gambar 5.10 Gambaran histopatologi jaringan hepar telur ayam berembrio dengan pewarnaan HE terdapat sel radang mononuklear jenis limfosit (a). Perbesaran 400x.
Ket : **KN** = kontrol negatif (TAB sehat), **KP** = kontrol positif (TAB diinokulasi virus pox 0.2 mL), **P1** = Perlakuan 1(TAB diinokulasi klorofil 0,03 mL dengan pox virus 0.2 mL), **P2** = Perlakuan 2(TAB diinokulasi klorofil 0,05 mL dengan virus pox 0.2 mL), **P3** = Perlakuan 3(TAB diinokulasi klorofil 0,07 mL dengan virus pox 0.2 mL).

Pengamatan jumlah sel radang dapat dilakukan dengan melihat gambaran histopatologi menggunakan pewarnaan *Hematoxyline Eosin* (HE). Prinsip dari pewarnaan HE yaitu inti yang bersifat asam akan menarik zat atau larutan yang bersifat basa sehingga akan terwarnai biru. Sitoplasma bersifat basa akan menarik zat atau larutan yang bersifat asam sehingga berwarna merah (Brown, 2015).

Perhitungan jumlah sel radang dilakukan menggunakan software *image Raster*®. Data yang didapat kemudian dianalisis secara statistika menggunakan software IBM SPSS *Statistic* 24®. Statistika deskriptif yang dilakukan menunjukkan nilai standar deviasi serta mean dari tiap-tiap kelompok kemudian dilakukan uji homogenitas dan uji normalitas yang bertujuan untuk mengetahui data bersifat homogen dan normal. Hasil dari kedua uji tersebut (**Lampiran 5**) menunjukkan bahwa data yang didapat bersifat homogen dan normal sehingga data dapat dilanjutkan untuk uji *one way* ANOVA. Hasil dari uji *one way* ANOVA (**Lampiran 5**) menunjukkan nilai Sig. <0.05 yang berarti H_0 ditolak sehingga terdapat satu kelompok atau lebih yang memiliki rata-rata dengan perbedaan yang signifikan. Untuk mengetahui kelompok dengan perbedaan rata-rata yang signifikan, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) atau Tukey. Uji BNJ atau Tukey yang dilakukan menunjukkan hasil sebagai berikut **Tabel 5.1**.

Tabel 5.1 Rata Rata Jumlah Sel Radang dan Hasil Uji BNJ ($\alpha=0.05$)

Kelompok	Rata rata Jumlah Sel Radang (%) \pm SD
K- (Negatif)	106.30 \pm 3.22 ^b
K+ (Positif)	66.15 \pm 3.23 ^a
P1 (Ekstrak Anggur Laut 0.03)	128.75 \pm 1.52 ^c
P2 (Ekstrak Anggur Laut 0.05)	142.10 \pm 4.10 ^d
P3 (Ekstrak Anggur Laut 0.07)	155.12 \pm 4.33 ^e
Keterangan : Perbedaan notasi menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($\alpha<0,05$) antara kelompok perlakuan	

Jumlah sel radang pada TAB kelompok kontrol negatif (TAB sehat) menunjukkan rata-rata 106.30 \pm 3.22 (**Tabel 5.1**). Jumlah sel radang pada kelompok negatif (K-) disebabkan karena tidak terjadi kerusakan jaringan sehingga tidak menimbulkan adanya reaksi imunologis, hal ini sesuai dengan pendapat Djamal dan Winiati (1999), meskipun tidak terjadi respon imunologis sel radang akan tetap ada untuk melakukan fagositosis sel. Pada kelompok kontrol positif (K+) berbeda nyata ($P<0,05$) dengan kelompok (K-), P1, P2, dan P3 (**Tabel 5.1**). Rendahnya jumlah sel radang pada kelompok K(+) yaitu menunjukkan rata-rata 66.15 \pm 3.23 terjadi akibat adanya pemberian virus pox pada TAB yang menyebabkan kerusakan pada hepar yaitu nekrosis kariolisis. Menurut Biswas (2011) *fowl pox virus* dengan genom reticuloendoteliosis virus (REV) mampu memberikan efek immunosupresif. Immunosupresif adalah penekanan dari kerja sistem imun, sehingga mampu menghambat proses pembentukan limfosit di dalam tubuh. Sel yang mengalami kerusakan akan mengeluarkan sitokin yang berfungsi sebagai faktor kemotaktik dari sel radang sebagai respon inflamasi.

Faktor kemotaktik akan menyebabkan sel radang seperti sel makrofag, limfosit, dan leukosit polimorfonuklear bergerak menuju jaringan yang terinfeksi.

Jumlah sel radang pada kelompok terapi P1 dengan virus pox 0.2 dan ekstrak anggur laut dengan volume 0.03 mL menunjukkan rata rata 128.75 ± 1.52 . Kelompok P2 dengan virus pox 0.2 mL dan ekstrak anggur laut 0.05 mL menunjukkan rata-rata 142.10 ± 4.10 . Kelompok terapi P3 dengan virus pox 0.2 mL dan ekstrak anggur laut dengan volume 0.07 mL menunjukkan rata-rata 155.12 ± 4.33 . Berdasarkan hasil tersebut, semua perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata hal ini dapat disebabkan karena ekstrak anggur mempunyai kandungan klorofil yang berfungsi sebagai anti virus sehingga replikasi virus dapat dihambat. Pada kelompok P1 menunjukkan volume klorofil yang paling baik dikarenakan rata rata jumlah sel radang lebih sedikit dari pada jumlah rata-rata sel radang pada kelompok lain.

Pada hepar yang terinfeksi virus pox akan mengalami inflamasi sehingga pada gambaran histopatologi akan terlihat adanya sel radang (Shivaprasad, 2009). Jenis sel radang yang terdapat pada jaringan hepar adalah sel radang mononuklear yaitu limfosit (**Gambar 5.10**). Pada embrio ayam limfosit pada hepar bersifat normal karena pada perkembangan homopoiesis pada hepar embrio berlangsung pada hari ke 7 masa inkubasi hingga pada hari ke 14 masa inkubasi dan terus mengalami pertumbuhan hingga sempurna pada hari ke 21 masa inkubasi (Wong, 1992).

Selisih volume ekstrak anggur laut antara 0.03 mL, 0.05 mL, dan 0.07 mL yang menyebabkan perbedaan jumlah rata rata sel radang. Hasil penelitian ini

tidak sesuai hipotesa yang mengatakan bahwa ekstrak anggur laut dapat menurunkan jumlah sel radang, tetapi dari hasil yang didapat dari kelompok P1, P2, dan P3 rata-rata antar kelompok berbeda semakin tinggi volume ekstrak anggur laut semakin banyak jumlah sel radang. Kondisi ini memperlihatkan gambaran dari efek stimulasi suatu zat pada percobaan farmakologi dan toksisitas yang muncul pada pemberian dosis sangat rendah dan dosis sangat tinggi (Murtini, 2006).

Proliferasi sel limfosit dapat terjadi akibat rangsangan mitogen tertentu seperti lektin yang merupakan salah satu glikoprotein asal tanaman (Roitt *et al.*, 2000). Senyawa flavonol, lignan glikosida dan monoterpen glikosida yang dapat bersifat sebagai mitogen (Ohashi *et al.*, 2003). Ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) mengandung senyawa flavonol. Berdasarkan penelitian Peters *et al.* (2003) rangsangan mitogen pada embrio ayam berusia 18 hari dapat menginduksi sel-sel timus (timosit) untuk meningkatkan transkripsi interferon γ (IFN γ), dan tumor growth factor β (TGF β). Peningkatan transkripsi berlanjut dengan translasi akan menghasilkan peningkatan sitokin-sitokin tersebut di atas. Tingginya induksi transkripsi interferon γ (IFN γ), dan tumor growth factor β (TGF β) akan meningkatkan jumlah sel T reseptor (TCR) yang matang. Ikatan antara mitogen pada reseptor CD2 dari sel limfosit T diduga menyebabkan peningkatan cGMP intraselular sehingga dapat menginduksi sel-sel limfosit T yang belum matang untuk berkembang dan mengalami pematangan (Fudenberg *et al.*, 1980).

Limfosit T yang matang akan memproduksi sitokin, berupa interferon γ (IFN- γ) dan interleukin 2 (IL-2). IFN- γ berperan dalam aktivasi makrofag dan

dapat menginduksi molekul MHC kelas II pada makrofag, sehingga membantu fungsi makrofag pada folikel limfoid untuk mengenali substansi asing. Makrofag juga dapat melepas sitokin, yaitu IL-1 yang berperan dalam memacu proliferasi sel T *helper* dan sel B. IL-2 merupakan faktor pertumbuhan untuk sel T yang teraktivasi oleh antigen dan dapat berperan sebagai faktor pertumbuhan dan diferensiasi bagi sel B, serta dapat mengaktivasi makrofag (Roitt *et al.*, 2000). Menurut Wijisekera (1991), pengaruh utama imunostimulan terhadap sistem kekebalan adalah meningkatkan proses fagositosis melalui peningkatan aktivitas makrofag dan granulosit, sedangkan pengaruh terhadap sel limfosit bersifat sekunder. Dengan demikian aktivitas proliferasi limfosit pada folikel limfoid bursa dan timus merupakan fungsi yang kompleks dari berbagai sel-sel kekebalan yang saling berinteraksi, dengan dimulainya aktivasi makrofag dan induksi pada sel limfosit T dan dilanjutkan dengan aktivasi proliferasi limfosit B.

Pada hasil penelitian ini didapatkan bahwa bertambahnya volume ekstrak anggur laut yang diberikan, maka jumlah zat aktif yang terkandung di dalam ekstrak tersebut juga semakin tinggi. Pada telur ayam berembrio yang diinokulasi ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) dengan volume 0.05 mL dan 0.07 mL dianggap toksik karena tingginya jumlah sel radang. Tingginya jumlah sel radang pada perlakuan 2 dan perlakuan 3 diakibatkan karena senyawa caulepin yang dapat menghilangkan senyawa bioaktif lainnya dari ekstrak anggur laut, sehingga memperpanjang fase inflamasi. Pada kelompok perlakuan 1 menunjukkan volume yang optimal dalam menurun jumlah sel radang karena kandungan flavonol pada ekstrak anggur laut dapat menurunkan fase inflamasi dikarenakan rata rata jumlah

sel radang hampir mendekati jumlah rata rata pada kontrol negatif. Menurut Djapiala (2015), mekanisme antiinflamasi pada flavonol terjadi melalui efek penghambatan enzim COX atau lipooksigenase, penghambatan dari jalur NF-KB, penghambatan akumulasi leukosit, penghambatan degranulasi neutrofil, dan juga penghambatan pelepas histamin sehingga inflamasi dapat menurun.

Penurunan jumlah sel radang sebanding dengan terhambatnya kerusakan hepar pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*). Volume yang paling baik sebagai anti virus pox pada telur ayam berembrio adalah 0.03 mL Hal ini terjadi karena penghambatan kerusakan sel-sel hepar yang diakibatkan virus pox berbanding lurus dengan penurunan jumlah sel radang pada kelompok perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak anggur laut mampu menurunkan jumlah sel radang dan menghambat terjadinya kerusakan hepar dibandingkan dengan kelompok yang diinfeksi virus pox. Sehingga ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) dapat digunakan sebagai antivirus pox.

BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Pemberian ekstrak anggur laut dengan volume 0.03 mL dapat sebagai anti virus dan dapat memperbaiki kerusakan sel hepar ditunjukkan dengan adanya perbaikan sel hepatosit, berkurangnya nekrosis dan degenerasi pada hepar TAB yang diinokulasi virus pox.
2. Pemberian ekstrak anggur laut dengan volume 0.03 mL paling baik dalam menurunkan jumlah sel radang

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan saran yang dapat dilakukan yakni :

1. Perlu dilakukan penelitian atau observasi lanjutan mengenai pemberian ekstrak anggur laut terhadap hewan coba ayam yang diinfeksi virus pox untuk pengaplikasian lebih lanjut sehingga dapat mengetahui hasil sebagai pembanding dan referensi lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Amirudin, D. 2009. Radang. *Pathology*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Hal 46-55.
- Ariawan, M. 2008. *Gambaran Histopatologi Hati dan Ginjal Mencit (Mus Musculus) Pasca Pemberian Daun Torbangun (Coleus Ambonicus)*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan, IPB.
- Aryudhani N. 2007. *Kandungan senyawa fenol rumput laut Caulerpa racemosa dan aktivitas antioksidannya*. [Skripsi]. Bogor: Program Studi Teknologi Hasil Perikanan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Apriyanto, R, D., Aoki, C., Hartati, S., dan Arsianti, A. 2016. *Aktivitas Antivirus Hepatitis C Fraksi n-Heksana, Etil Asetat, dan n-Butanol Daun Lengkek*. Prosiding Seminar Nasional Hasil PPM IPB
- Beytut, E and Haligur, M. 2007. Pathological, Immunohistochemical and elektron Microscopic Findings in the Respiratory and Skin of Chickens Naturally Infected with Avipoxvirus. *Turk. J. Vet. Anim. Sci* 31(5) : 311-317.
- Biswas, K. S., Jana, C., Chand, K and Mondal B. 2011. Detection of Fowl Pox Virus Integrated with Reticuloendotheliosis Virus sequences from an Outbreak in Backyard Chickens in India. *Veterinaria Italiana* 47(2), 147-153.
- Brown, S. 2015. The Science and Application of Hematoxylin and Eosin Staining. Robert H. Lurie Comprehensive Cancer Center. Northwestern University
- Dellman H. D., Brown E. M. 1992. *Textbook of Veterinary Histology*. Lea & Febiger, Philadelphia. Terjemahan Oleh R. Hartono. Universitas Indonesia Press. Jakarta Hal : 300-309, 392-402.
- Dimara, L., Dan Yenusi T. N. B. 2011. Uji Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Ekstrak Pigmen Klorofil Rumput Laut Caulerpa Racemosa (Forssakal) J.Agardh. *Jurnal Biologi Papua Vol 3 (2) : 53-58*
- Djapiala, F. P., Montolalu A. D. Y., Dan Mentang, F. 2015. *Kandungan Total Fenol Dala Rumput Laut Caulerpa Racemosa Yang Berpotensi Sebagai Antioksidan*. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Unsrat
- Djamal, N.Z., dan E. Winiarti. 1999. Peran Sitokin Dalam Patogenesis Berbagai Kelainan Mukosa Mulut. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya*. 6(2) : 31-42

- Doneley, B. 2004. *Treating Liver Disease In The Patient*. Seminar In Avian And Exotic Pet Edicine 7(2) : 8-15
- Dwihandita, N. 2009. *Perubahan Kandungan Antioksidan Anggur Laut (Caulerpa racemosa) Akibat Pengolahan*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB
- Emmanuel, O., Eze, D., and Kenned, F. 2014. Reccuring Outbreaks of Fowl Pox in a Poultry Farm in Nsukka, Southeast Nigeria. *Journal of Agriculture and Veterinary Science*.
- Eroschenko, V. P. 2003. *Atlas Histologi Difore dengan Korelasi Fungsional edisi 9*. Buku Kedokteran EGC : Jakarta.
- Ferdous, F., Maurice D., Scoot, T. 2008. Broiler Chick Trombocyte Response to Lipopolysaccaride. *Poult Sci*. 87 : 61-63
- Friend, M., Franson, C. 2012. *Field Manual of Wildlife Disease-General Field Procedures and Diseases of Birds*. Create Space Independent : US.
- Gilhare, V. R., Hirpukar S. D., Kumar, A., Naik, S. K., and Sahu, T. 2015. Pock Forming Ability Of Fowl Pox Virus Isolated From Layer Chicken And Its Adaptation In Chiken Embryo Fibroblast Cell Culture. *Veterinary World, EISSN : 2231-0916*
- Guyton, A.C. dan J.E Hall.1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Setiawan, I (Ed.). Edisi ke-9. EGC: Jakarta
- Guyton A. C. dan Hall J. E. 2007. *Buku Teks Fisiologi Kedokteran (Textbook Of Medical Physiology) Edisi 11*. EGC : Jakarta : 392-400
- Hewajuli, A. D. dan Darmayanti. 2015. Peran Sistem kekebalan Non-spesifik dan Spesifik pada Unggas terhadap Newcastle Disease. *Wartazoa Vol. 25 : 135-146*.
- Jankovic, B.D., Isakovic, K., Lukic, M.L and Vujanovic, L.N. 1975. Immunological Capacity of the Chicken Embryo. *Imunology* 29:497
- Juul-Madsen, H.R., Viertboeck, B. 2008. *Avian Inate Immune Response*. California : Academic Press is an Imprint of Elsevier. P. 13-50.
- Karmana, O., 2007. *Cerdas Belajar Biologi*. Bandung: Grafindo Media Pratama
- Keller, Laura R., John H. Evans, Thomas C. S. Keller. 1999. *Experimental Developmental Biology*. USA: Academic Press

- Kencana, G. A. Y., Suartha, I. N., Nurhandayani, A., Ramadhan, M., 2014. Kepekaan Telur Spesific Pathogen Free Dan Clean Egg Terhadap Virus Flu Burung. *Jurnal Veteriner ISSN : 1411-8327*.
- Kristianingrum, Y. P., Tabbu, C. R., Sutrisno B., Widyarii, S., Kurniasih, Utari, S., Dan Kusumawati, A. 2015. Deteksi Bovine Herpesvirus-1 secara Immunohistokimia pada Membran Korioallantois Telur Ayam Berembrio. *Jurnal Veteriner ISSN : 1411-8327*
- Kumar, V., Cotran, R. S., Robbin S. L. 2013. *Buku Ajar Patologi 9th Ed.* Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kusriningrum. 2008. *Perancangan percobaan*. Surabaya: Airlangga University Press
- Kusumawati, A., Febriany, R., Hananti, S., Dewi, S.M., dan Istiyawati, N. 2016. Perkembangan Embrio dan Penentuan Jenis Kelamin DOC (Day-Old Chicken) Ayam Jawa Super. *JSV 34 (1)*
- Lubis, F.A., M. Riau waty, H. Syawal. 2014. *Histology of Liver and Kidney of *Mystus nemurus* that Immerse with *Curcuma xanthorrhiza*, ROXB extract*. Fishery and Marine Science Faculty, Riau University, Pekanbaru
- Murtini, S., Murwani, R., Satrija, F., dan Malole, M. 2006. Penetapan Rute dan Dosis Inokulasi pada Telur Ayam Berembrio sebagai Media Uji Khasiat Ekstrak Benalu Teh (*Scurrula oortina*). *JITV 11(3):191-197*
- Murtini, S., Murwani, R., Satrija, F., dan Malole, M. 2006. Efek Imunomodulasi Ekstrak Benalu Teh (*Scurrula oortina*) pada Telur Ayam Berembrio.. *JITV 11(2):137-143*
- Ohashi, K., Winarno, M., Prana, P. 2003. Indonesian Medical Plants XXV Cancer Cell Invasion Inhibitory Effects of Chemical Constituents. *Chem, Pharm, Bull. 51:343-345*
- OIE. 2016. *Fowl Pox*. World Assembly of Delegates OIE Chapter 2.3.10
- Peters, M.A., Browning, G. 2003. Embryonic Age Influences the Capacity for Cytokine Induction in Chicken Thymocytes. *Immunology 110:358-367*
- Pirenantyo, P., dan Limantara, L. 2008. Pigmen Spirulina sebagai Anti Kanker. *Indonesia Journal of Cancer 4 : 155-163*.
- Pudjiatmoko. 2014. *Manual Penyakit Unggas*. Kementrian Pertanian Direktorat Jenderal Peternakan Dan Kesehatan Hewan

- Ridhowati, S., Asnani. 2016. Potensi Anggur Laut Kelompok *Caulerpa racemosa* sebagai Kandidat Sumber Pangan Fungsional Indonesia. *Oseana XLI(4):50-62*
- Riyono, H. S. 2007. Beberapa Sifat Umum dari Klorofil Fitoplankton. *Oseana Vol XXXII (1) : 23-31.*
- Robbins, S.L., V. Kumar, and Ramzi. 2004. *Buku Ajar Patologi Edisi 7*. Jakarta: EGC
- Roitt, I., Brostoff, J. 200. *Imunology 5th Ed*. Mosby International Ltd. London
- Scott, T., Owens, M.D. 2008. Thrombocyte respond to Lipopolysaccharide through Toll-like Receptor-4 and MAP kinase and nf-kB Pathways Leading to ekspresion IL-6. *Mol Immunol*, 45:10001-1008
- Shivaprasad, L. H,m Kim, T., Tripathy, D., dan Uzal, F. 2009. Unusual Pathology of Canary Poxvirus Infection Associated with High Mortality in Young and Adult Breeder Canaries. *Avian Pathology* 38 (4): 311-316
- Silvia, P.S., Batinga, T.D., Sales, T.S., dan Ferandes, L. 2009. Fowlpox : Identification and Adaption of Prophylactic Measures in Backyard Chiken in Bahia, Brazil. *Brazilian Journal of Poultry Science*
- Suparmi dan Sahri, A. 2009. Mengenal Potensi Rumput Laut : Kajian Pemanfaatan Sumber Daya Rumput Laut dari Aspek Industri dan Kesehatan. *Sultan Agung Vol XLIV 118*
- Sravani, j., Padmaja, K. 2017. Effect of Bisphenol-a on Histopathology in Liver and Brain of Chick embryos. *International Journal of Applied and Pure Science and Agriculture* 03(3)
- Tortora G. J., Funke B. R., and Case C. L. 2001. *Microbiology : An Introduction 7th Ed*. Addison Wesley Longman, Inc. California.
- Tresssh, S.A., Buker, O.A. 2014. Histological, Histochemical and Imunohistochemical Studies on thymus of Chicken. *Int J Histol Cytol*, 1:103-111
- Verlaque, M., Durand, C., Huisman J. M., Boudouresque C. F., Le Parco, Y. 2003. On The Identity and Origin of The Mediterranean Invasive *Caulerpa Racemosa* (Caulerpales, Chlorophyta). *European Journal Of Phycology* 38-325.
- Weli C.S., Tryland, M. 2011. Avipoxviruses : Infection Biology and Their use as Vaccine Vectors. *Virology Journal* 8:49
- Wibowo, M., Asmara, W. 2002. Isolasi Dan Propagasi Agen Penyebab Penyakit Dari Kasus Terdiagnosa Penyakit Infectious Laryngotracheitis (ILT) Pada Telur Ayam Berembrio. *Jurnal Sains Veteriner Vol XX No 2.*

- Wu, B., Cui, H., Peng, X., dan Liu, X. 2013. Pathology of Bursa of Fabricius in Methionine Deficient Broiler Chicken. *Nutrients*, 5:877-886
- Wulandari, T., Harini, M, dan Listyawati, S. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap Struktur Mikroanatomi Hepar dan Kadar Glutamat Piruvat Transaminase Serum Mencit (*Mus musculus*) yang Terpapar Diazinon. *Bioteknologi* 4(2):53-58
- Wong, G.K., Cavey, M.J. 1992. Development of the Liver in the Chicken Embryo. *The Anatomical Record* 234:555-567
- Young, B., G. O'Dowd., and P. Woodford. 2014. *Wheater's Functional Histology A Text and Colour Atlas Sixth Edition*. Philadelphia: Elsevier
- Yegani, M. 2010. Application of Egg Yolk Antibodies as Replacement for Antibiotics in Poultry. *Worlds Poult Sci J.* 66:27-38

